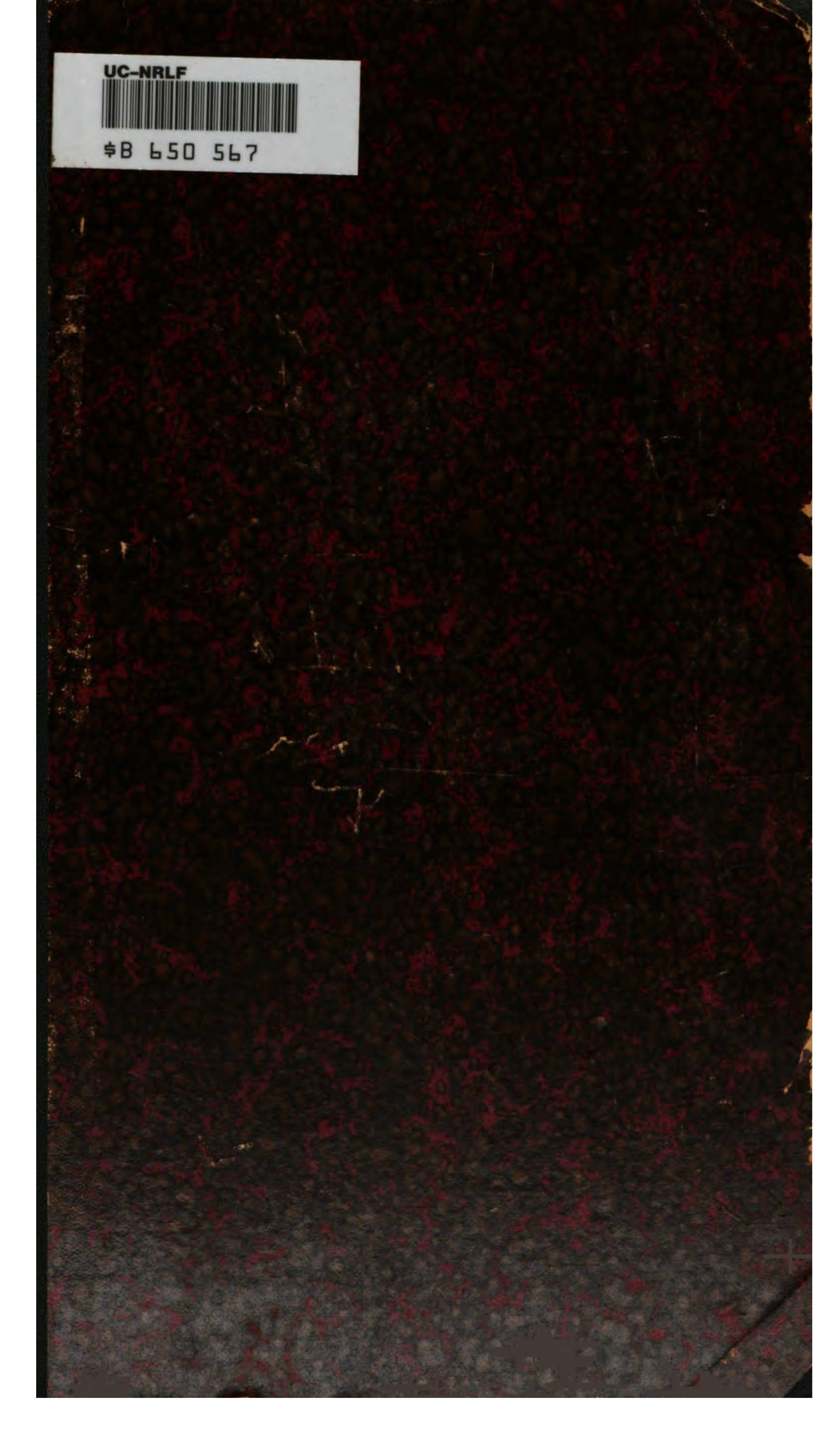
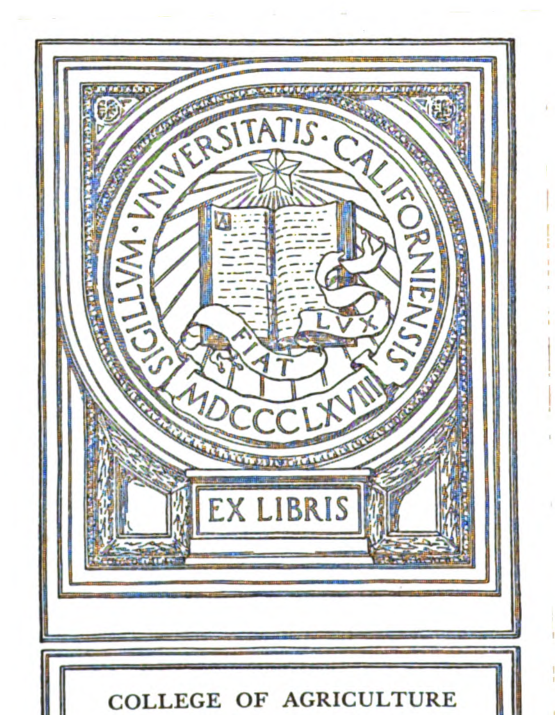
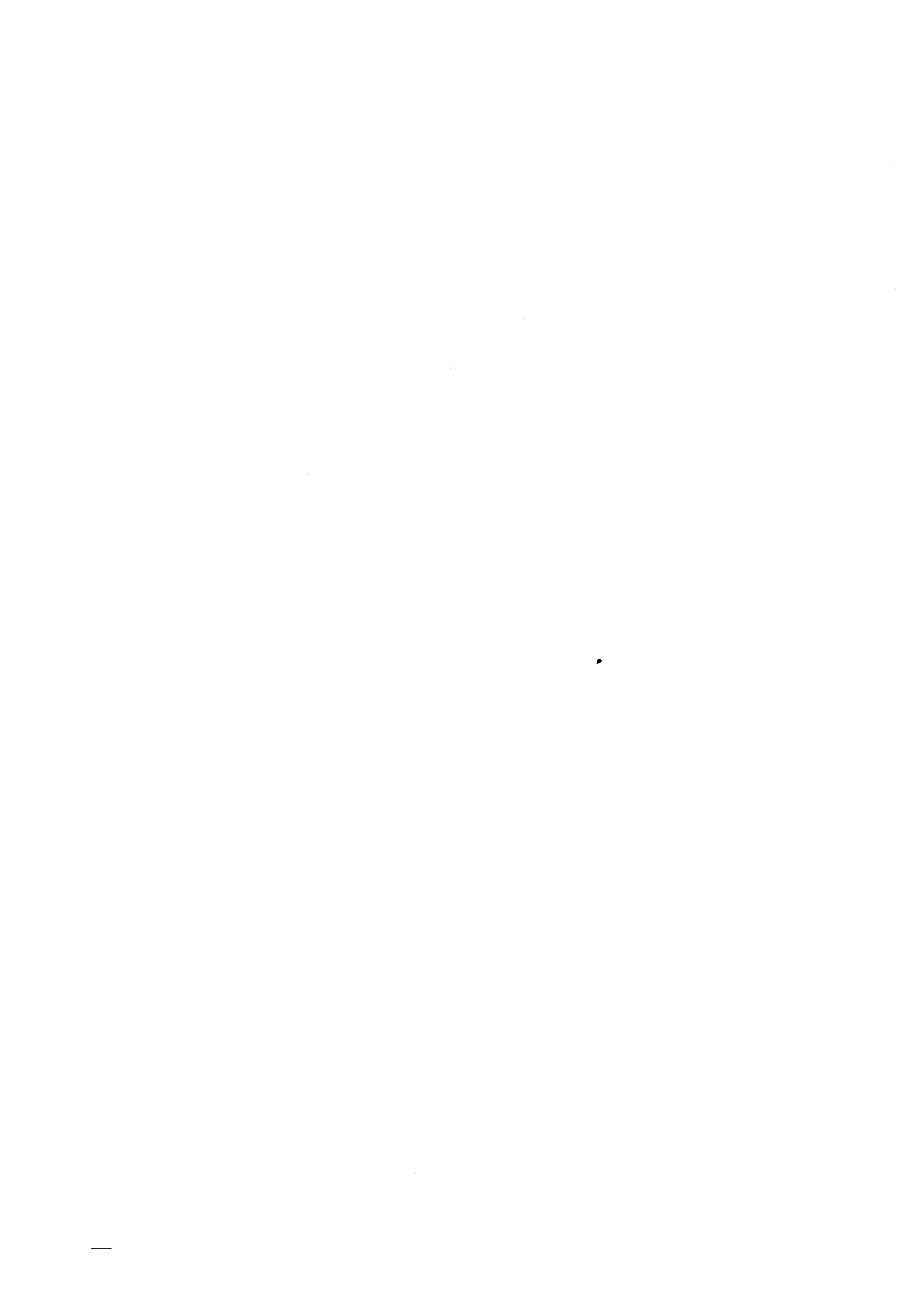



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA





# Biochemische Zeitschrift.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, P. Bergell-Berlin, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Chr. Bohr-Kopenhagen, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Berlin, G. Embden-Frankfurt a. M., S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Marburg, M. Jacoby-Heidelberg, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-Berkeley, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, R. Pfeiffer-Königsberg, Ch. Porcher-Lyon, F. Röhmann-Breslau, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, E. H. Starling-London, F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenter Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1908.

Spamersche Buchdruckerei in Leipzig-R.

# Inhaltsverzeichnis.

# Über die Assimilation des Kohlenstoffes bei wasserstoffoxydierenden Bakterien.

Von

**A. F. Lebedeff.**

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der Neurussischen Universität Odessa.)

*(Eingegangen am 15. September 1907.)*

Im vorigen Jahre hatte ich einen wasserstoffoxydierenden Kokkus isoliert, welcher mit großer Energie die Zerlegung der Kohlensäure zu vollziehen vermochte. Mit diesem Mikroorganismus waren nach der früher von mir zusammen mit Prof. A. J. Nabokich beschriebenen Methode neue Versuche angestellt[1]), um den Chemismus der Kohlensäureassimilation aufzuklären. Ich beabsichtigte experimentell zu erforschen, ob bei der Zerlegung der Kohlensäure freier Sauerstoff durch die Mikroorganismen gebildet wird, welcher zur Oxydation des Wasserstoffes gebraucht werden konnte. Es ist leicht zu verstehen, daß quantitative Untersuchungen über das Verhältnis $H_2 : O_2$ zur Lösung der Frage mir ganz befriedigende Angaben liefern konnten. Bei dem Vorhandensein eines Prozesses, welcher freien Sauerstoff liefert, werden für das Verhältnis zwischen oxydierten Mengen des Wasserstoffes und den dazu verbrauchten Sauerstoffquantitäten selbstverständlich nur solche Zahlen erhalten, welche den theoretischen Wert 2 : 1 weit übertreffen.

Die Versuche bestätigten diese Vermutung. Ich hatte folgende Resultate erhalten:

| Nummern des Versuches | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8[2]) | 9 | 10 | 11[2]) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Oxydierter Wasserstoff in ccm | 277,91 | 155,19 | 401,90 | 219,80 | 122,72 | 213,33 | 189,40 | 275,25 | 151,60 | 114,76 | 269,60 |
| Verbrauchter Sauerstoff in ccm | 113,92 | 59,81 | 157,65 | 93,85 | 58,10 | 86,14 | 79,60 | 115,75 | 55,89 | 35,31 | 94,91 |
| Verhältnis $H_2 : O_2$ | 2,44 | 2,59 | 2,55 | 2,34 | 2,11 | 2,47 | 2,38 | 2,38 | 2,71 | 3,25 | 2,84 |

[1]) Centralbl. f. Bakt. **17**, 1906.

[2]) Nährlösung mit $MgCO_3$.

Diese Zahlen weichen von den theoretischen Werten weit ab und zwar immer in derselben Richtung: wir hatten immer einen Überschuß an Wasserstoff beobachtet. Irgend welche Versuchsfehler sind kaum zu vermuten. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß die überschüssige Menge verbrauchten Wasserstoffes durch den dünn Assimilationsprozesses gebildeten Sauerstoff oxydiert wurde.

In der Tat, wenn für Assimilationsprozesse die Beyerschen Gleichungen angenommen werden $CO_2 = CO + O$; $CO + H_2O = CH_2O + O$, kann man auch für Wasserstoffoxydationsprozesse Zahlen erhalten, welche auf die Gleichung $2\,H_2 + O_2 = 2\,H_2O$ fast genau zutreffen.

Die oben mitgeteilten Zahlen werden folgendermaßen modifiziert, wenn der Sauerstoff der zerlegten Kohlensäure mitgerechnet wurde:

| Nummern des Versuches | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zerlegte Mengen der Kohlensäure in ccm | 35,76 | 21,52 | 29,51 | 28,11 | 13,96 | 31,03 | 17,97 | 19,66 | 32,06 |
| Verhältnis $H_2 : O_2$ | 1,85 | 1,91 | 2,14 | 1,80 | 1,70 | 1,82 | 1.94 | 2,00 | 1.70 |

Es scheint also sehr wahrscheinlich zu sein, daß kein prinzipieller Unterschied zwischen dem Chemismus der Kohlensäureassimilation der grünen Pflanzen und dem der Bakterien zu verzeichnen ist.

Herrn Prof. Dr. A. J. Nabokich möchte ich für seinen freundlichen Rat hier meinen besten Dank sagen.

Odessa, den 9. August 1907.

## Analytische Belege.

### Versuch I.

Destillationkolben 781,5 ccm mit 90,5 ccm Nährlösung, enthaltend im Liter 0,5 $KH_2PO_4$, 2,0 $KNO_3$, 0,2 $MgSO_4$ und 1,0 $NaHCO_3$. Der Kolben wurde mit 691 ccm der Gasmischung folgender Zusammensetzung gefüllt:

| | |
|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . . | 6,94% |
| H . . . . . . . . . . . | 58,66% |
| $O_2$ . . . . . . . . . . . | 28,71% |
| N . . . . . . . . . . . | 5,67% |
| | 99,98% |

Nach 41 Tagen wurde der Kolben unter sterilisiertem Wasser geöffnet; es wurden dann 457 ccm Wasser zur Deckung des gebildeten Vakuums verbraucht. Die Analyse des gebliebenen Gases ergab:

| | |
|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . . | 2,35% |
| H . . . . . . . . . . . | 52,52% |
| $O_2$ . . . . . . . . . . . | 35,14% |
| N . . . . . . . . . . . | 9,93% |
| | 99,94% |

Diese Daten ermöglichen, die Quantitäten der verbrauchten Gase zu berechnen. Es ist aber nötig, die Löslichkeit des Gases in der Nährlösung und im Wasser auch beim Öffnen in Betracht zu ziehen. Man nahm sie gleich der Löslichkeit in Wasser an und rechnete nach der Formel $x = \frac{a \cdot k \cdot p}{100}$, wo $x$ die Mengen des gelösten Gases im Kubikzentimeter, $a$ die Menge des Wassers in Kubikzentimetern, $k$ die Löslichkeit des Gases und $p$ Prozent des Gases in der Gasmischung ist. Damit haben wir also die Daten, um die von der Kultur verbrauchte Gasmenge zu berechnen.

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 47,96 | 405,34 | 198,39 | 39,18 |
| in der Lösung | 6,29 | 1,02 | 0,78 | |
| | 54,15 | 406,36 | 199,17 | 39,18 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 5,50 | 122,90 | 82,23 | 23,24 |
| in der Lösung | 12,89 | 5,55 | 5,75 | 0,80 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | | | −2,73 | −5,40 |
| | 18,39 | 128,45 | 85,25 | 18,64 |
| Verbraucht | 35,76 | 277,91 | 113,92 | −20,54 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,44$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 11,7 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch II.

Destillationskolben 787 ccm Kapazität mit 91 ccm Nährlösung und 696 ccm Gasmischung. Binnen 21 Tagen wurden 243 ccm von den Gasen verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,60 % | 2,86 % |
| H | 67,99 % | 69,47 % |
| $O_2$ | 23,01 % | 22,12 % |
| N | 3,40 % | 5,52 % |
| | 100,00 % | 99,97 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 38,98 | 473,21 | 160,15 | 23,66 |
| in der Lösung | 5,07 | 1,16 | 0,62 | — |
| | 44,05 | 474,37 | 160,77 | 23,66 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 12,96 | 314,70 | 100,20 | 24,43 |
| in der Lösung | 9,57 | 4,48 | 2,21 | 0,27 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | | | — 1,45 | — 2,87 |
| | 22,53 | 319,18 | 100,96 | 21,83 |
| Verbraucht | 21,52 | 155,19 | 59,81 | — 1,83 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,59$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 10,1 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch III.

Destillationskolben 773 ccm Kapazität mit 90,5 ccm Nährlösung und 682,5 ccm Gasmischung. Binnen 87 Tagen wurden 600,5 ccm der Gase verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,60 % | 1,92 % |
| H | 67,99 % | 66,34 % |
| $O_2$ | 23,01 % | 0,0 % |
| N | 3,40 % | 31,74 % |
| | 100,00 % | 100,00 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 38,22 | 464,00 | 157,03 | 23,21 |
| in der Lösung | 5,09 | 1,19 | 0,62 | — |
| | 43,31 | 465,19 | 157,65 | 23,21 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 1,57 | 54,40 | — | 26,02 |
| in der Lösung | 12,23 | 8,89 | — | 3,08 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | — | −6,73 |
| | 13,80 | 63,29 | | 22,37 |
| Verbraucht | 29,51 | 401,90 | 157,65 | −0,84 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2{,}55$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 20,4 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch IV.

Destillationskolben 1474,5 ccm Kapazität mit 139,5 ccm Nährlösung und 1335 ccm Gasmischung. Binnen 32 Tagen wurden 371,5 ccm der Gase verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Daten:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 9,31 % | 7,40 % |
| H | 58,46 % | 57,76 % |
| $O_2$ | 27,95 % | 28,88 % |
| N | 4,32 % | 5,95 % |
| | 100,04 % | 99,99 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 124,29 | 780,43 | 373,13 | 57,67 |
| in der Lösung | 13,01 | 1,57 | 1,17 | — |
| | 137,30 | 782,00 | 374,30 | 57,67 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 71,30 | 556,50 | 278,26 | 57,33 |
| in der Lösung | 37,89 | 5,70 | 4,41 | 0,45 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | | | −2,22 | −4,39 |
| | 109,19 | 562,20 | 280,45 | 53,39 |
| Verbraucht | 28,11 | 219,80 | 93,85 | −4,28 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,34$.
Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 11,7 ccm Knallgas verbraucht

### Versuch V.

Destillationskolben 717 ccm Kapazität mit 92,5 ccm Nährlösung und 624,5 ccm Gasmischung. Binnen 19 Tagen wurden 214,5 ccm von den Gasen verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 6,94 % | 4,99 % |
| H | 58,66 % | 58,82 % |
| $O_2$ | 28,71 % | 29,41 % |
| N | 5,67 % | 6,84 % |
| | 99,98 % | 100,06 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 43,34 | 366,33 | 179,29 | 35,41 |
| in der Lösung | 6,43 | 1,05 | 0,79 | — |
| | 49,77 | 367,38 | 180,08 | 35,41 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 20,46 | 241,17 | 120,56 | 28,05 |
| in der Lösung | 15,35 | 3,49 | 2,70 | — |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | −1,28 | 2,54 |
| | 35,81 | 244,66 | 121,98 | 25,51 |
| Verbraucht | 13,96 | 122,72 | 58,10 | −9,90 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,11$.
Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 13,2 ccm Knallgas verbraucht.

### Versuch VI.

Destillationskolben 654,5 ccm Kapazität mit 89 ccm Nährlösung und 565,5 ccm Gasmischung. Binnen 35 Tagen wurden 343 ccm der Gase verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,56 % | 0,82 % |
| H | 58,40 % | 52,18 % |
| $O_2$ | 29,07 % | 35,17 % |
| N | 6,85 % | 11,82 % |
| | 99,88 % | 99,99 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 31,44 | 330,23 | 164,40 | 38,74 |
| in der Lösung | 4,96 | 1,00 | 0,74 | — |
| | 36,40 | 331,23 | 165,14 | 38,74 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 1,78 | 113,50 | 76,49 | 25,71 |
| in der Lösung | 3,59 | 4,40 | 4,59 | 0,76 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | −2,08 | −4,11 |
| | 5,37 | 117,90 | 79,00 | 22,36 |
| Verbraucht | 31,03 | 213,33 | 86,14 | −16,38 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,47$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 10,3 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch VII.

Destillationskolben 912 ccm Kapazität mit 95 ccm Nährlösung und 817 ccm Gasmischung. Binnen 35 Tagen wurden 289 ccm Gas verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,19 % | 3,36 % |
| H | 61,39 % | 58,51 % |
| $O_2$ | 28,50 % | 28,89 % |
| N | 4,93 % | 9,23 % |
| | 100,01 % | 99,99 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 42,40 | 501,55 | 232,84 | 40,27 |
| in der Lösung | 4,94 | 1,12 | 0,81 | — |
| | 47,34 | 502,67 | 233,65 | 40,27 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 17,74 | 308,93 | 152,54 | 48,73 |
| in der Lösung | 11,63 | 4,34 | 3,15 | 0,50 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | | | −1,64 | −3,24 |
| | 29,37 | 313,27 | 154,05 | 45,99 |
| Verbraucht | 17,97 | 189,40 | 79,60 | +5,72 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2{,}38$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 15,8 ccm Knallgas verbraucht.

### Versuch VIII.

Destillationskolben 1017 ccm Kapazität mit 91 ccm Nährlösung, ungefähr 0,1 $M_2CO_3$ und 926 ccm Gasmischung. Binnen 35 Tagen wurden 437 ccm von den Gasen verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,19 % | 0,59 % |
| H | 61,39 % | 58,96 % |
| $O_2$ | 28,50 % | 30,04 % |
| N | 4,93 % | 10,41 % |
| | 100,01 % | 100,00 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 48,06 | 568,50 | 263,90 | 45,65 |
| in der Lösung | 4,73 | 1,07 | 0,77 | |
| | 52,79 | 569,57 | 264,67 | 45,65 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 2,89 | 288,32 | 146,90 | 50,90 |
| in der Lösung | 2,81 | 6,00 | 4,50 | 0,77 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | | | −2,48 | −4,90 |
| | 5,70 | 294,32 | 148,92 | 46,77 |
| Verbraucht | 47,09 | 275,25 | 115,75 | +1,12 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2{,}38$.

## Versuch IX.

Destillationskolben 1030 ccm Kapazität mit 93 ccm Nährlösung und 937 ccm Gasmischung. Binnen 39 Tagen wurden 220 ccm des Gases verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 5,19 % | 3,38 % |
| H | 61,39 % | 58,74 % |
| $O_2$ | 28,50 % | 29,37 % |
| N | 4,93 % | 8,46 % |
| | 100,01 % | 99,95 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 48,63 | 575,20 | 267,04 | 46,19 |
| in der Lösung | 4,80 | 1,10 | 0,79 | |
| | 53,43 | 576,30 | 267,83 | 46,19 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 24,23 | 421,16 | 210,57 | 60,66 |
| in der Lösung | 9,54 | 3,54 | 2,61 | 0,37 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | − 1,24 | − 2,46 |
| | 33,77 | 424,70 | 211,94 | 58,57 |
| Verbraucht | 19,66 | 151,60 | 55,89 | + 12,38 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,71$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 11,6 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch X.

Destillationskolben 774 ccm Kapazität mit 96 ccm Nährlösung und 678 ccm Gasmischung. Binnen 28 Tagen wurden 190 ccm des Gases verbraucht. Die Gasanalysen ergaben folgende Resultate:

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 9,88 % | 5,94 % |
| H | 48,72 % | 43,86 % |
| $O_2$ | 35,85 % | 42,34 % |
| N | 5,55 % | 7,86 % |
| | 100,00 % | 100,00 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 66,99 | 330,32 | 243,36 | 37,63 |
| in der Lösung | 9,37 | 0,90 | 0,98 | — |
| | 76,36 | 331,22 | 244,34 | 37,63 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 28,99 | 214,04 | 206,66 | 38,36 |
| in der Lösung | 15,31 | 2,42 | 3,44 | — |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | −1,07 | −2,13 |
| | 44,30 | 216,46 | 209,03 | 36,23 |
| Verbraucht | 32,06 | 114,76 | 35,31 | −1,40 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 3,25$.

Auf 1 ccm assimilierter $CO_2$ war 5,4 ccm Knallgas verbraucht.

## Versuch XI.

Destillationskolben 648 ccm Kapazität mit 94,5 ccm Nährlösung, ungefähr 0,1 g $MgCO_3$ und 551,5 ccm Gasmischung. Binnen 35 Tagen wurden 418,5 ccm des Gases verbraucht.

| | Vor dem Versuch | Nach dem Versuch |
|---|---|---|
| $CO_2$ | 9,88 % | 0,6 % |
| H | 48,72 % | 0,0 % |
| $O_2$ | 35,85 % | 71,76 % |
| N | 5,54 % | 27,63 % |
| | 99,99 % | 99,99 % |

| | $CO_2$ ccm | H ccm | $O_2$ ccm | N ccm |
|---|---|---|---|---|
| Vor dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 54,49 | 268,70 | 197,70 | 30,57 |
| in der Lösung | 8,33 | 0,90 | 0,98 | — |
| | 62,82 | 269,60 | 198,68 | 30,57 |
| Nach dem Versuch | | | | |
| in der Gasmischung | 0,80 | 0,0 | 95,45 | 36,75 |
| in der Lösung | 2,77 | 0,0 | 10,69 | 1,99 |
| mit dem Füllwasser eingeführt | — | — | −2,37 | −4,70 |
| | 3,57 | 0,0 | 103,77 | 34,04 |
| **Verbraucht** | 59,25 | 269,60 | 94,91 | +3,47 |

Das Verhältnis $H_2 : O = 2,84$.

# Über die Wirkung der salpetrigen Säure auf die Eiweißstoffe.

Von

**Dr. Z. Treves,**

Privatdozent der Physiologie an der Kgl. Universität Turin

und

**Dr. chem. G. Salomone.**

*(Eingegangen am 29. September 1907.)*

Die Wirkung der salpetrigen Säure auf die Eiweißstoffe ist zum ersten Male von H. Schiff[1]) untersucht und als eine Desamidierung erklärt worden, indem die im Eiweißmolekül enthaltenen Amidogruppen $NH_2$ abgespalten würden und dadurch die von denselben bewirkte Biuretreaktion verloren ginge. Wenn auch eigentlich nie eine vollständige Übereinstimmung bezüglich dieses letzteren Punktes herrschte, so begann man doch erst dann an der von Schiff angegebenen Wirkung der salpetrigen Säure auf die Eiweißstoffe zu zweifeln, als wiederholte Analysen der sog. Desamidoalbumine zeigten, daß die Verminderung des N-Gehaltes weder konstant ist noch sich bei jedem mit $HNO_2$ behandelten Eiweißstoffe zeigt. Levites[2]) schließt auf Grund seiner Analysen eine Verminderung sowohl des totalen als auch des ammoniakalen N-Gehaltes infolge der Wirkung von $HNO_2$ auf die Eiweißkörper aus. Derselbe Forscher, in Übereinstimmung mit den Angaben von Z. Treves und A. Pellizza[3]), hat auch bemerkt, daß die Biuretreaktion bei den mit $HNO_3$ behandelten Eiweißkörpern nicht vollständig unterdrückt wird. Ein im vergangenen Monat Januar erschienenes Sammelreferat von Skraup und Kaas[4])

---

[1]) H. Schiff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **29**, 1354, 1896.

[2]) Levites, Zeitschr. f. physiol. Chem. **34**, 202, 1904.

[3]) Z. Treves und A. Pellizza, Acc. Reale delle Scienze di Torino-Atti **39**, **1904**.

[4]) Skraup und Kaas, Annal. d. Chem. **351**, 379, 1907.

stimmt mit dem von Levites Gefundenen überein. Diese Autoren fanden, daß mit $HNO_2$ behandeltes Casein und Glutin sich von den nicht damit behandelten nur dadurch unterscheiden, daß erstere etwas weniger Phosphor und etwas mehr Sauerstoff enthalten; Ovalbumin enthält nach der Nitrosierung nur einen etwas größeren Prozentgehalt an Schwefel und Phosphor. Die Autoren schließen eine molekulare Spaltung des Glutins aus, halten dieselbe aber für möglich beim Casein, für wahrscheinlich beim Albumin; das nitrosierte Albumin behält die Reaktion auf labilen Schwefel bei, sowie die Molischsche Reaktion mit $\alpha$-Naphthol und Thymol auf die carbohydratische Gruppe, aber nicht mehr die Millonsche Reaktion auf Tyrosin, während die Biuretreaktion zweifelhaft ist. Nach denselben Autoren liefert das nitrosierte Albumin, ebenso wie das nitrosierte Casein und Glutin, infolge der hydrolytischen Prozesse kein Lysin mehr, während letzteres nach der Hydrolyse des gewöhnlichen Albumins gefunden wird. Wir werden noch Gelegenheit haben, auf einige der von diesen Autoren den nitrosierten Eiweißstoffen zugeschriebenen Merkmale zurückzukommen; um aber die Literatur der uns jetzt beschäftigenden Frage zu vervollständigen, möchten wir gleich bemerken, daß soviel uns bekannt ist[1]), noch kein Autor die Nitrosierungsprodukte der Eiweißstoffe von dem Gesichtspunkte aus beurteilt hat, wie einer von uns, der sich bei gemeinschaftlich mit Dr. Pellizza im Jahre 1904 ausgeführten Arbeiten aus mehreren Gründen für berechtigt hielt[2]), die durch Wirkung von $HNO_2$ auf die Eiweißkörper entstandenen Produkte als Diazoderivate zu betrachten. Das mit $HNO_2$ bei gewöhnlicher Zimmertemperatur behandelte Casein wurde in dieser Mitteilung von Z. Treves und A. Pellizza als ein gelblicher Körper beschrieben, der, wenn er nicht rasch filtriert und gewaschen sowie möglichst im Dunkeln getrocknet und aufbewahrt wird, sich leicht verändert, indem er sich braun-rötlich färbt. Er wird vom Licht, von ätzenden Alkalien und von konzentrierten Säuren bei Anwesenheit von $Cu_2Cl_2$ unter Entwicklung von N zersetzt; durch Zinkpulver wird er langsam entfärbt, wodurch das ursprüngliche Casein wieder entsteht. Er ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther und verdünnten

[1]) Siehe S. Fränkel, Deskriptive Biochem. **1907**. 259—260.

[2]) Z. Treves und A. Pellizza, a. a. O.

Säuren, löslich in Natriumcarbonat und Alkalihydraten, woraus er durch Mineralsäuren und Essigsäuren gefällt wird. Mit einer alkoholischen $\beta$-Naphthollösung unter Alkalisierung mit NaOH nimmt das gelbliche Produkt sogleich eine beständige braun-rote Färbung an. Der entstandene Körper ist blau, wenn er, statt mit Wasser, mit entwässertem Alkohol gewaschen wird; sein Verhalten hinsichtlich der Löslichkeit ist dasselbe wie das des gelblichen Stammkörpers. Gefärbte Kopulationsprodukte erhält man von nitrosiertem Casein auch mit Salicylsäure, sowie mit anderen Phenolen und Aminen. Ähnliche Merkmale besitzen das nitrosierte Eieralbumin, Fibrin, Gelatin usw. — Der gelbliche Körper zeigt, wenn er in einer kalten KOH-Lösung unter Hinzufügung einiger Tropfen verdünnten Kupfersulfats suspendiert wird, eine unreine rot-violette Färbung, die nach und nach deutlicher wird und sich sehr langsam der ganzen Flüssigkeit mitteilt. Er ist in $HCl\ 2\,^0/_{00}$ nicht quellbar, vom künstlichen Magen- und Pankreassaft wird er nicht verdaut. Der auf Fibrin stark einwirkende Magensaft ist kaum imstande, das nitrosierte und das nach Nitrosierung mit $\beta$-Naphthol kopulierte Fibrin anzugreifen; im zweiten Fall wird die Flüssigkeit schwach rötlich gefärbt. Der Magensaft, in dem der gelbe Körper längere Zeit hindurch digeriert wurde, zeigte weder violette noch rosenrote Biuretreaktion. Der gelbliche Körper entsteht nicht bei Behandlung der käuflichen Peptone (Merck) mit $HNO_2$. Nach einigen Versuchen zu urteilen, scheint es jedoch, daß einige dialysierbare Produkte sowohl der peptischen als auch der tryptischen Verdauung noch mit $HNO_2$ zu reagieren imstande sind; denn die mit $HNO_2$ versetzte und dann mit $\beta$-Naphthol in alkoholischer Lösung behandelte Verdauungsflüssigkeit nimmt eine gelblich-rötliche Farbe an, die sich durch Dialysierung der äußeren Flüssigkeit mitteilt. Die Behandlung der Eiweißkörper geschah bei unseren Versuchen nicht wesentlich anders als bei Schiffs Versuchen, nur bei anderer Temperatur; wir arbeiteten bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (16—18° C), Schiff dagegen bei 34—40° C. — Die von Schiff und von uns angegebenen Eigenschaften des gelblichen Körpers dagegen weichen wesentlich voneinander ab. Nach Schiff wird er nämlich durch HCl und Pepsin ziemlich leicht gelöst, gibt aber nachher die Biuretreaktion nicht; der von uns beobachtete Körper ist dagegen in HCl nicht quellbar, im Magensaft unlöslich, zeigt aber die Biuret-

reaktion (auf Albumosen), wenn auch nicht so rasch und deutlich wie die gewöhnlichen Eiweißkörper; der Grund davon dürfte in der verminderten Löslichkeit zu suchen sein. Unsere mit $HNO_2$ behandelten Eiweißkörper zeigen aber noch dazu in ganz deutlicher Weise das charakteristische Verhalten der Diazoderivate. Folgendes Schema dürfte den wahrscheinlichen Verlauf der Reaktion veranschaulichen:

$$\underset{\text{Albumin}}{R.\,(NH_2)\,n} \xrightarrow[n\,(NaNO_2 + HCl)]{n\,(HNO_2 + HCl)} \underset{\text{gelblicher Körper}}{R.\,(N = NCl)\,n}$$

$$R.\,(N = NCl)\,n \xrightarrow[\text{Natrium } \beta\text{-Naphthol}]{n\,C_{10}H_7ONa} \underset{\text{roter Körper}}{R.\,(N = NC_{10}H_7ONa)}$$

Wir bemerkten aber zugleich in der angegebenen Mitteilung, daß die Reaktion mit $HNO_2$ noch erfolgen konnte, wenn der Eiweißkörper lange in Formaldehydlösung aufbewahrt wurde, und daß in diesem Falle der entstandene Körper die durch die Behandlung mit Formaldehyd und die durch Nitrosierung bestimmten Veränderungen gleichzeitig zeigte; so war er einerseits in kaltem Alkalihydrat unlöslich (rasch löslich dagegen in siedendem 10prozentigen NaOH mit Entwicklung von $NH_3$), andererseits zeigte er keine Spur mehr von Biuretreaktion. Daher glaubten wir die Hypothese aufstellen zu müssen, daß nicht alle Stickstoff enthaltenden Gruppen der Proteinmoleküle (NH oder $NH_2$) fähig seien, mit dem Formaldehyd in Verbindung zu treten, sondern vielleicht nur die Imidogruppe, oder daß die Amidoformaldehydgruppen unter der Einwirkung der $HNO_2$ gespalten werden, während die Imido-Formaldehydgruppen unverändert bleiben, so daß jedenfalls der von verschiedenen Autoren, u. a. von Benedicenti[1]) angegebene Vorgang der formoproteischen Verbindungen nur teilweise anzunehmen sei.

Im Jahre 1905 hat nun wieder einer von uns[2]) einige schwefelreiche Eiweißderivate beschrieben, die durch Behandlung der in Natriumhydrat oder Natriumcarbonat gelösten Eiweißkörper (Eiereiweiß, Casein usw.) mit $CS_2$ erhalten werden. Die Eiweiß-

---

[1]) A. Benedicenti, Arch. f. Physiol., Physiol. Abt. 279, 1897.

$$\underset{\text{Albumin}}{R.\,NH_2} + CH_2O = R.\,NCH_2 + H_2O.$$

[2]) Z. Treves, Arch. It. di Fisiol. Luglio 1905.

lösung nimmt sogleich eine gelbe Farbe an und durch Zusatz von verdünnter Essigsäure läßt sich aus ihr ein Körper fällen, der, nachdem er gewaschen und getrocknet worden ist, dieselbe mehr oder weniger ausgesprochene Färbung zeigt. Der so gewonnene Stoff ist in verdünnten Alkalien schwer löslich; einige der charakteristischen Eiweißkörper-Reaktionen (Biuretfärbung der in verdünntem NaOH nach Zusatz einiger Tropfen verdünnter $CuSO_4$-Lösung suspendierten Substanz) sind bei ihm noch ziemlich deutlich vorhanden, andere zeigen sich unrein oder zweifelhaft (Raspailsche und Xanthoproteinreaktion), andere endlich fallen negativ aus (Liebermann-Wurster und Adamkievicz). Auffallend groß ist der Schwefelgehalt zugunsten des labilen Schwefels. In Anbetracht unserer noch ganz mangelhaften Kenntnisse bezüglich der oben erwähnten Eiweißderivate (Nitrosierung, Formo- und Schwefelkohlenstoffverbindungen) hielten wir es für nützlich, das Studium derselben wieder aufzunehmen, um die Einzelheiten der Vorgänge besser zu bestimmen und besonders um zu konstatieren, ob die beschriebenen Reaktionen gleichzeitig eintreten und nebeneinander bestehen können, oder ob sie sich gegenseitig ausschließen.

I. Diazoalbumin. — Um eventuelle Zersetzungen soviel als möglich zu vermeiden, arbeiteten wir stets bei 0°, also weder bei Zimmertemperatur (wie bei unseren früheren Untersuchungen) noch bei 34—40° C, wie Schiff. 50 g mit Alkohol und Äther wiederholt gewaschenes Eiweiß (Merck) wurden in 200 ccm einer 10prozentigen $NaNO_2$-Lösung gebracht; dann wurde die berechnete Menge verdünnter HCl hinzugefügt. Die Mischung wurde wiederholt umgerührt, bis sich keine salpetrige Säure mehr entwickelte. Hierauf wurde durch ein Tuch filtriert, die gefällte Substanz gewaschen und durch den Luftstrom getrocknet, bis das Waschwasser keine Reaktion mehr auf $HNO_2$ zeigte. Man erhält zuletzt einen pulverigen Körper, dessen Farbe ganz schwach strohgelb ist, um erst nach längerer Zeit rötlich zu werden, besonders wenn er nicht gegen Licht und Luft geschützt wird. Die filtrierte Flüssigkeit ist gelb; läßt man sie längere Zeit hindurch stehen, so scheidet ein schwach gelbliches, sehr feines Pulver aus, dessen Verhalten mit dem der abfiltrierten Masse identisch ist. Die gewöhnlichen Präcipitationsmittel der Eiweißkörper lassen sonst keine weitere Substanz aus der Flüssigkeit ausscheiden. Dieser

Umstand scheint uns nicht zugunsten der Hypothese von Skraup und Kaas zu sprechen, daß beim Albumin unter der Einwirkung von $HNO_2$ eine Spaltung eintrete, die bei anderen Eiweißkörpern, z. B. Glutin, nicht zustande komme. Auch in bezug auf andere Einzelheiten weicht unsere Erfahrung von der der genannten Autoren ab, was sich übrigens leicht erklären dürfte durch die vielleicht nicht gleichgültigen Unterschiede zwischen unserem Verfahren und dem von den genannten Autoren befolgten. Skraup und Kaas operierten nämlich nicht mit fertigdargestelltem Albumin, sondern mit einem nicht denaturierten Gemisch von Eieralbumin und Ammoniumsulfat; sie ließen die Kolben über Nacht stehen und erhitzten sie dann im Wasserbad, bis das Schäumen vollständig aufgehört hatte und die Masse zusammengefallen war. Dies war nach zwei Stunden der Fall; der gefällte Körper wurde dann noch mit warmem $H_2O$ gewaschen, bis die saure Reaktion verschwunden war, hieiauf mit drei Liter warmen Wassers, bis der Rückstand des Filtrats durch Verdampfung auf ein Minimum reduziert war. Dann wurde der ausgeschiedene Körper noch mit heißem Alkohol und Äther gewaschen. — Die schwach strohgelb gefärbte ausgeschiedene Masse ist in kaltem Wasser unlöslich, schwer löslich in heißem Wasser, worin sie auch teilweise zersetzt wird; sie ist unlöslich in kaltem und heißem Alkohol, löst sich sehr langsam in kalter, rascher in warmer Alkalilösung, wodurch die Flüssigkeit tiefbraun gefärbt wird. Von dieser Flüssigkeit scheiden die Mineralsäuren und die Essigsäure eine flockige weiße Masse ab, die in Alkali löslich ist und eine ausgesprochene violette Biuretreaktion ergibt. Der strohgelbe Körper quillt in Wasser sehr wenig, bedeutend mehr in verdünnnte Alkalien und Alkalicarbonat. Er hat einen totalen Schwefelgehalt von 1,66% (gegenüber 1,65% des nicht nitrosierten Albumins) und 0,298% labilen Schwefel (gegenüber 0,315% des nicht nitrosierten Albumins). Er zeigt alle schon in der Einleitung angegebenen Merkmale der Diazoderivate, sowie andere, die bei früheren Versuchen nicht geprüft worden waren. Als die wichtigsten seien hier folgende erwähnt:

1. langsame Reduzierung durch Zinkpulver;

2. Kopulierung mit Naphtholen, Phenolen usw. unter Annahme einer roten Färbung;

3. die Liebermannsche Reaktion ist vorhanden, d. h. durch Behandlung mit $H_2SO_4$ und Phenol nimmt die Substanz eine grün-

blaue Färbung an, die sich nach Zusatz von Wasser und Alkalien in Rot umwandelt.

4. Mit $H_2SO_4$ und Thymol nimmt der gelbliche Körper eine *tiefgrüne* Färbung an, die nach und nach rotbraun und nach Zusatz von $H_2O$ und Alkali entschieden rot wird. Das nicht nitrosierte Albumin nimmt dagegen nach Zusatz von $H_2SO_4$ und Thymol eine rotviolette Färbung an.

5. Nach Zusatz einer alkoholischen Lösung von Paraphenylendiamin und Alkalisierung durch NaOH nimmt der gelbliche Körper eine beständige gelbrötliche Farbe an, die sich nach und nach der ganzen Flüssigkeit, in der der Körper sich allmählich löst, mitteilt. Die Flüssigkeit zeigt endlich eine Farbe, die an die Farbstoffe der Crysoidingruppe erinnert.

Das Diazoalbumin gibt noch die Biuretreaktion, die aber nicht so leicht erkennbar ist wie bei gewöhnlichen Proteinen. Es löst sich nämlich sehr langsam in mäßig verdünnter KOH-Lösung; es quillt darin und bleibt lange suspendiert. Fügt man nun einige Tropfen verdünnter Kupfersulfatlösung hinzu, so nehmen die gequollenen Flocken eine tief rotbraune Färbung an, welche nach und nach in die ganze Flüssigkeit übergeht. Das Diazoalbumin färbt sich gelb bei Behandlung mit $HNO_3$ (Xanthoproteinreaktion); die Liebermann-Wurstersche Reaktion tritt deutlich ein, die Adamkieviczsche bleibt unbestimmt, die Millonsche tritt nicht ein. Im siedenden Wasser wird das Diazoalbumin zerstört und die zurückbleibende Substanz gibt eine sehr deutliche Biuretreaktion. Dies stimmt mit den Angaben von Levites, daß bei dem (bei einer Temperatur von 40° C dargestellten) Desamidoalbumin von H. Schiff die Biuretraktion nicht fehle. Das mit siedendem Wasser behandelte Diazoalbumin läßt sich nicht mehr mit Naphtholen kopulieren und nimmt bei Behandlung mit $H_2SO_4$ und Phenol keine bestimmte Farbe mehr an. Mit $H_2SO_4$ und Thymol behandelt färbt es sich statt tiefgrün rosagelblich, wie es nach den Angaben von Skraup und Kaas der Fall sein sollte, die doch bei höherer Temperatur arbeiteten. Mit siedendem Wasser behandeltes Diazoalbumin gibt mit Paraphenylendiamin keine deutliche Reaktion mehr. Lassen wir das Diazoalbumin trocken sich auf 100° oder mehr erwärmen, so wird es allmählich rötlichgelb und verliert nach und nach die angegebenen Eigenschaften, während die charakteristischen Reaktionen immer

weniger deutlich werden. Auch Alkalien vermögen Diazoalbumin zu zerstören; in KOH gelöst und dann wieder mit verdünnten Säuren gefällt, abfiltriert und getrocknet, gibt das Diazoalbumin keine der angegebenen Reaktionen mehr und ist unfähig, gefärbte Kopulationsprodukte zu liefern.

II. Schwefelreiches Albumin. — Bei dieser Reihe von Versuchen war die Behandlung des Albumins mit Schwefelkohlenstoff inniger als bei den früher mitgeteilten. 25 g Eiereiweiß (Merck) wurden im Wasserbad mit 25—30 g $CS_2$ in einem Destillierkolben mit Rückfallseinrichtung auf 50° erhitzt. Die Menge Schwefel, welche dem Eiweiß in labiler Verbindung anhängend bleibt, ist von der Zeit abhängig, während welcher man das Eiweiß auf den siedenden $CS_2$ reagieren läßt. Die folgende Tabelle gibt ein Bild von dem Verlauf der Reaktion:

| Versuch | Reaktionsdauer in Stunden | Total-Schwefel % | Labiler Schwefel % | Labiler Schwefel % d. Totalschwefels |
|---|---|---|---|---|
| 1 | gewöhnl. Eiweiß | 1,48 | 0,375 | 25,337 |
| 2 | 0,5 | 2,05 | 1,237 | 60,341 |
| 3 | 1 | 3,411 | 2,163 | 63,412 |
| 4 | 2 | 4,127 | 2,145 | 66,353 |
| 5 | 3 | 4,805 | 3,397 | 70,697 |
| 6 | 5 | 5,394 | 4,002 | 74,195 |
| 7 | 8 | 5,923 | 4,639 | 78,321 |
| 8 | 14 | 6,426 | 5,238 | 81,511 |

Die Reaktion wurde durch Destillieren des zurückbleibenden $CS_2$ unterbrochen; das entstandene Produkt wurde auf dem Filter gesammelt und durch Wasser, Alkohol und Äther gewaschen. Es ist ein schwach hellgelb gefärbter Körper, der die Xanthoproteinreaktion deutlich zeigt; kaum erkennbar dagegen ist die Adamkieviczsche und die Liebermann-Würstersche Reaktion. Die Biuretreaktion zeigt sich zuerst begrenzt auf die schwerlösliche Substanz, die lange Zeit hindurch auf dem Boden des Reagensglases bleibt; erst später teilt sich die Färbung der ganzen Flüssigkeit mit. Das schwefelreiche Albumin quillt sehr wenig in 2‰ HCl. Vom frischdargestellten, starkwirkenden, künstlichen Magensaft wird es viel langsamer verdaut als das gewöhnliche Albumin; die Flüssigkeit nimmt alsdann eine gelbe Farbe an und zeigt die

rosarote Biuretraktion sowie die Gnesdasche Reaktion. Durch Behandlung derselben Flüssigkeit mit $HNO_3$ und Sättigung mit Magnesiumsulfat läßt sich die Anwesenheit von Proto- und Heteroalbumosen nachweisen, die mit gelblicher Farbe aus einer farblosen Flüssigkeit gefällt werden. Das schwefelreiche Eiereiweiß, mit stark wirkendem künstlichen Pankreassaft versetzt, gibt der Mischung eine unreine grüne Färbung; die filtrierte Flüssigkeit ist ganz klar und grün, der auf dem Filter gesammelte Rückstand aschfarben. Durch Essigsäure gesäuert und in siedendem Wasserbad erwärmt, läßt das Filtrat einen flockigen Stoff ausscheiden; der getrocknete Rückstand ist dunkelgrün gefärbt. Von dem klaren Filtrat lassen sich Tyrosin und Leucin abkrystallisieren. Das schwefelreiche Albumin läßt sich in warmem HCl lösen und die Flüssigkeit nimmt eine bräunlichgelbe Färbung an, sowie einen eigentümlichen empireumatischen Geruch, der sich doch mit keinem andern richtig definierbaren Geruch vergleichen läßt. Im Destillat ist kein Phenylsenföl zu erkennen; werden die Destillationsprodukte mit gelbem Quecksilberoxyd oder mit Eisenperchlorid versetzt, so läßt sich die Anwesenheit von Carbylaminen nicht nachweisen. Diese Vorprüfungen dürften also beweisen, daß unsere Schwefeleiweißverbindung nicht von derselben Art ist wie die zwischen Anilin und Schwefel durch Behandlung des Anilins mit Schwefelkohlenstoff entstehende Verbindung.

III. Formaldehydalbumin. — 25 g Eieralbumin (Merck) wurden mehrere Tage lang in einer 40 prozentigen Formaldehydlösung bei gewöhnlicher Temperatur in geschlossenem Kolben liegen gelassen. Wie mehrere Autoren, unter anderen Trillat und Benedicenti, gezeigt haben, verbindet sich, wenn man zu Eiweiß Formaldehyd hinzufügt, letzteres mit dem Eiweißmolekül; es läßt sich aber vollständig wieder abtrennen durch Destillieren im Wasserdampfstrom; im Destillat kann man das fixierte Formaldehyd quantitativ bestimmen. Solche Bestimmungen haben wir mit Rosanilinsulfat ausgeführt; 2,5—3 g Eieralbumin, die verschiedene Zeit hindurch in Berührung mit Formaldehyd geblieben waren, haben uns folgende Werte geliefert:

| Tage | Formaldehyd |
|---|---|
| 1 | 0,527 % |
| 2 | 0,741 % |
| 4 | 0,856 % |

| Tage | | Formaldehyd |
|---|---|---|
| 6 | . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,982 % |
| 10 | . . . . . . . . . . . . . . . . . | 1,123 % |
| 15 | . . . . . . . . . . . . . . . . . | 1,257 % |

Schwefel im gebrauchten Eieralbumin . . . . . . . 1,502 %
Schwefel im Formaldehydalbumin . . . . . . . . . . 1,490 %

Die neue Substanz ist gelblichweiß gefärbt, hat ein rauhes körniges Aussehen, ist in Wasser, Säuren und kaltem Alkali unlöslich. Die Biuretreaktion sowohl wie auch die Liebermann-Würstersche Reaktion fällt negativ aus[1]); mit dem Millonschen Reaktiv färbt sich die Substanz gelb. Mit $H_2SO_4$ und Thymol behandelt, nimmt sie eine dunkelrote Färbung an, wie das gewöhnliche Albumin. Mit siedendem Wasser behandelt, verliert die Substanz das Formaldehyd und verändert sich zu Albumose, die eine ganz ausgesprochene violette Färbung infolge der Biuretprobe zeigt. In warmen Säuren und Alkalien ist sie löslich und zersetzt sich, indem das gebundene Formaldehyd wieder frei wird. Einer von uns hatte in Gemeinschaft mit A. Pelizza in einer früheren Arbeit[2]) bemerkt, daß, wenn man das Formaldehyd auf Albumin bei höherer Temperatur einwirken läßt, die gewonnene Substanz nach langer Einwirkung des Wasserdampfstroms wohl jede Spur von Geruch nach Formaldehyd verlieren kann, jedoch die angegebenen Eigenschaften hinsichtlich der Löslichkeit bewahrt. Jedenfalls entsteht, mag nun das Formaldehyd bei gewöhnlicher oder höherer Temperatur eingewirkt haben, unter Einwirkung von $HNO_2$ nach dem oben angegebenen Verfahren aus dem Formaldehydalbumin ein Diazoformaldehydalbumin.

IV. Diazoformaldehydalbumin — rotgelbe Farbe, Liebermannsche ($H_2SO_4$ und Phenol) Reaktion, Färbungsreaktion auch mit $H_2SO_4$ und Thymol, violettrote Kopulationsprodukte mit Naphthol, hellrote Färbung mit Paraphenylendiamin. Nach Destillieren im Wasserdampfstrom findet sich im Destillat eine Menge von Formaldehyd, die derjenigen entspricht, welche das gebrauchte Formaldehydalbumin geliefert hätte. Die Lieber-

---

[1]) Nach S. Fränkel (Deskriptive Biochem. 259) sollte die neue Substanz alle Eiweißreaktionen geben.

[2]) A. a. O.

mann-Wurstersche Reaktion ist unsicher; was die Löslichkeit betrifft, so zeigt das Diazoformaldehydalbumin die oben erwähnten Eigenschaften des Diazoalbumins und des Formaldehydalbumins vereint. In siedendem Wasser, in Säuren und Alkalien zersetzt sich die Substanz; in Alkalien gelöst und durch Säuren wiedergefällt, hinterläßt sie ein Präcipitat, das die violette Färbung der Biuretreaktion sehr deutlich zeigt. Sie zeigt aber keine Reaktion mehr mit $H_2SO_4$ und Phenol, mit $H_2SO_4$ und Thymol und mit Paraphenylendiamin.

V. Diazoschwefelreiches Albumin. Es entsteht durch Behandlung des schwefelreichen Albumins (II.) mit $HNO_2$; es ist ein gelber Körper, der, der Luft und dem Licht ausgesetzt, sich an der Oberfläche ziemlich rasch zersetzt unter Annahme einer rötlichen Farbe. Die abfiltrierte Flüssigkeit enthält keinen weiteren Eiweißstoff mehr, der sich durch die üblichen Mittel trennen oder an den bekannten Reaktionen erkennen ließe. Der totale Schwefelgehalt ist nicht geändert im Vergleich zu dem des gebrauchten schwefelreichen Albumins; während z. B. letzteres 6,426% Totalschwefel und 5,238% labilen Schwefel enthielt, zeigte das diazotierte Produkt einen Prozentgehalt Totalschwefel von 6,384, der labile Schwefel 5,117. Das diazoschwefelreiche Albumin läßt sich noch schwerer in kaltem Wasser, Alkalien und Säure lösen als das schwefelreiche Albumin; es löst sich aber ziemlich rasch in der Wärme. Undeutlich ist die Biuretreaktion mit den schon bei I. angegebenen Merkmalen, deutlich dagegen die Liebermann-Würstersche Reaktion. Die Farbenreaktionen mit $H_2SO_4$ und Phenol, $H_2SO_4$ und Thymol kommen sehr deutlich zustande, farbige Kopulationsprodukte sind auch leicht zu erhalten. Der Körper verbindet sich mit Paraphenylendiamin unter Annahme einer gelblichroten Färbung und das gefärbte Produkt löst sich allmählich in der alkalischen Flüssigkeit; läßt man den Körper lange in siedendem Wasser, so entwickelt sich Stickstoff und das zurückbleibende Produkt gibt die erwähnten Reaktionen nicht mehr. Dieses Produkt löst sich in siedender Alkalilösung, läßt sich aber durch Säuren wieder fällen; der filtrierte, gewaschene und gutgetrocknete Niederschlag zeigt ganz deutlich die violette Biuretreaktion.

VI. Schwefelreiches Diazoalbumin. Wie das schwefelreiche Albumin mit $HNO_2$ auf die vorhin beschriebene Weise

reagiert, so reagiert seinerseits Diazoalbumin mit Schwefelkohlenstoff, indem ein rötlichgelber Körper entsteht, der dieselben Eigenschaften wie die unter V. beschriebenen besitzt, indem der Schwefelgehalt im Vergleich zu dem des Diazoalbumins bedeutend vermehrt ist. So z. B. ist beim gebrauchten Diazoalbumin der totale Schwefelgehalt 1,327%, labilen Schwefel 0,509%; nach der Behandlung mit Schwefelkohlenstoff steigt der Prozentschwefelgehalt auf 5,848, der Prozengehalt des labilen Schwefels bis auf 4,375.

VII. Schwefelreiches Formaldehydalbumin. (Zwölfstündige Behandlung des Formaldehydalbumins mit siedendem Schwefelkohlenstoff). Es enthält einen etwas kleineren Prozentsatz Formaldehyd, als das gebrauchte Formaldehydalbumin und viel mehr Schwefel.

| | Formaldehyd % | Total-Schwefel % | Labiler Schwefel % |
|---|---|---|---|
| Formaldehydalbumin | 1,254 | 1,517 | 0,384 |
| nach Behandl. mit $CS_2$ | 0,973 | 4,379 | 3,650 |

Die Biuretreaktion sowie die Liebermann-Würstersche Reaktion fehlen, mit Millonschem Reaktiv tritt gelbe Färbung ein; es besitzt alle vorhin bei dem Formaldehydalbumin (III.) und dem schwefelreichen Albumin (II.) beschriebenen Eigenschaften.

VIII. Diazoschwefelreiches Formaldehydalbumin. Das schwefelreiche Formaldehydalbumin wurde mit $HNO_2$ nach dem unter I. angegebenen Verfahren behandelt; es entsteht ein Körper, der alle für das Diazoalbumin angegebenen Reaktionen gibt, den Schwefelgehalt des schwefelreichen Formaldehydalbumins bewahrt und, im Wasserdampfstrom erhitzt, den unter VII. angegebenen Formaldehydgehalt quantitativ wiedergibt.

Fassen wir unsere Beobachtungen zusammen, so ergibt sich die interessante Tatsache, daß das Eiweißmolekül gleichzeitig Schwefel in labilen Verbindungen, Formaldehyd und Stickstoff nach der Verbindung $R.N = N$ zu fixieren vermag. Dieses Ergebnis bestätigt die oben erwähnte Hypothese, daß nicht dieselben im Eiweißmolekül enthaltenen Atomgruppen die drei oben er-

wähnten Reaktionen zu geben imstande seien, wie man glauben könnte. Was die Wirkung der salpetrigen Säure betrifft, so scheint uns festgestellt zu sein, daß die durch dieses Mittel erhaltenen Produkte, deren von verschiedenen Autoren gegebene Beschreibungen ziemlich übereinstimmen, Diazoderivate sind. Ob dieselben auf Kosten von im Eiweißmolekül präexistierenden Atomgruppen entstehen oder auf Kosten von Gruppen, die erst nach mehreren Zwischenstufen sich während des Verlaufs der Reaktion bilden, indem vielleicht das Eiweißmolekül unbekannten Spaltungen und Zusammensetzungen entgegengeht, sind wir nicht imstande zu entscheiden[1]. Folgende Punkte möchten wir aber hervorheben:

1. Die Diazoderivate des Eiweißmoleküls zeigen im allgemeinen alle charakteristischen Reaktionen desselben, wenn diese Reaktionen auch nicht mehr so rasch und deutlich eintreten.

2. Die Eiweißkörper können noch diazotiert werden, wenn sie auch zuerst lange Zeit der Wirkung des 10 prozentigen Natriumhydroxyds unterworfen wurden.

3. Nach der Fällung der Diazoderivate bleiben keine proteischen Rückstände mehr in der Lösung.

4. Die Diazoderivate der Eiweißkörper, mit siedendem Wasser oder Alkalien behandelt, zersetzen sich und hinterlassen in der Lösung Eiweißstoffe, die eine deutliche violette Biuretreaktion zeigen.

5. Die sog. Biuretreaktion kann man kaum als von der Anwesenheit der Gruppen $CO - NH_2$ abhängig auffassen; auch diese Gruppen sollten nämlich von der salpetrigen Säure zersetzt werden, und dennoch ist bei den Diazoderivaten die Biuretreaktion noch immer vorhanden.

6. Man könnte vielleicht vermuten, daß die von uns als Diazoderivate beschriebenen Stoffe einfache Additionsprodukte des Eiweißmoleküls mit $HNO_2$ seien. Das glauben wir mit Sicherheit ausschließen zu können; wenn man nämlich die Stoffe lange Zeit mit siedendem Wasser zersetzt, so kann die Anwesenheit von $HNO_2$ in der Flüssigkeit auch nicht spurenweise nachgewiesen werden.

---

[1] Z. Treves und A. Pellizza, a. a. O.

# Über die Prinzipien der exakten Respirationsversuche.

Einige Bemerkungen an Dr. Oppenheimer.

Von

**August Krogh.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität zu Kopenhagen.)

*(Eingegangen am 30. September 1907.)*

In einer in vorliegender Zeitschrift (**4**, 328—470) veröffentlichten Arbeit „Über die Frage der Anteilnahme elementaren Stickstoffs am Stoffwechsel der Tiere" teilt Oppenheimer die Resultate einer Reihe von Respirationsversuchen mit, die er mit einem nach den Regnaultschen Prinzipien erbauten Apparate unternommen hat, und kommt (S. 438) zu dem Ergebnisse, es sei unmöglich, „mit dieser direkten Methode die Frage, ob eine geringfügige Anteilnahme gasförmigen Stickstoffes stattfindet, zu lösen," indem die unvermeidlichen Fehler einen sehr wesentlichen Teil des totalen Stickstoffumsatzes betrügen.

Es nütze nichts, sagt er weiter, mit kleinen Apparaten zu arbeiten, denn das benötige auch die Benutzung kleiner Tiere, und mithin lasse sich der relative Fehler nicht vermindern. Hieran knüpft er folgende Note (S. 439): „Dies hat Krogh in seiner soeben erschienenen Arbeit getan. Er erhielt dadurch außerordentlich kleine absolute Fehler, aber auch nur eben an ganz kleinen Tieren (höchstens Mäusen), so daß sie relativ in genau derselben Größenordnung liegen wie die meinen an Hunden."

Gegen diese Äußerungen Einspruch zu erheben, halte ich für meine Pflicht, indem ich teils behaupten muß, daß ich in meiner Arbeit: „Über die Ausscheidung freien Stickstoffes aus dem Körper"[1]) die Frage von einer geringfügigen Anteilnahme des

[1]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. **1906**; Skandinav. Arch. f. Physiol. **18** (englische Übersetzung).

elementaren Stickstoffes mit Bezug auf kleine Tiere gelöst habe, teils aber auch, daß dasselbe sich sehr wohl mit großen Tieren in großen Apparaten tun läßt, indem man durch exakte Durchführung der Versuche eine Genauigkeit wird erzielen können, die ca. zehnmal größer ist als die von Oppenheimer bei seinen Versuchen angenommene, und wenigstens zwanzigmal größer als diejenige, mit welcher er wirklich gearbeitet hat.

Ein kurzer Nachweis der Fehlerquellen, die trotz aller angewandten Behutsamkeit noch der von Oppenheimer benutzten Methode anhaften, wie auch der Mittel, dieselben zu vermeiden, wird vermutlich nicht ohne Interesse sein, um so mehr, da einige der Fehler so ernstlicher Natur sind, daß ihre Vermeidung auch bei Respirationsversuchen, die nur eine genaue Bestimmung des Sauerstoffes und der Kohlensäure bezwecken, notwendig sein wird. — Einige dieser Fehlerquellen behandelte ich bereits ausführlich in meiner obengenannten Arbeit, auf die ich deshalb an mehreren Punkten verweisen kann.

Um nun vorerst die relative Genauigkeit einiger verschiedenen Untersuchungen nachzuweisen, werde ich eine Reihe von Oppenheimers Versuchsresultaten mit den entsprechenden, von Regnault-Reiset, Seegen-Nowak und mir selbst gefundenen zusammenstellen, so zwar, daß die Stickstoffausscheidung in Kubikzentimetern pro Liter aufgenommenen Sauerstoffs angegeben wird[1]).

---

[1]) Oppenheimer spricht (S. 394) der Berechnung der Stickstoffausscheidung in ihrer Beziehung zum Sauerstoffverbrauche jegliche Bedeutung ab, es sei denn, daß man davon ausgehe, daß der gefundene Stickstoff von Unreinheit des Sauerstoffs herrühre. Bei einem Respirationsversuche ist der Sauerstoffverbrauch jedoch der beste Ausdruck für den Totalstoffwechsel, und es hat guten Sinn, die Stickstoffausscheidung im Verhältnisse hierzu zu betrachten, solange man davon ausgeht, daß sie eine Stoffwechselerscheinung von reeller Existenz sein kann. Um Aufklärung zu geben, müssen die Versuche sich dann über einen so langen Zeitraum erstrecken, daß die unvermeidlichen Fehler im Verhältnisse zum Sauerstoffverbrauche verschwindend werden. Nur wenn man von vornherein davon ausgeht, daß alles, was man an aufgenommenem oder abgegebenem Stickstoff finde, Fehlern zu verdanken sei, hat die Berechnung dieses Stickstoffes im Verhältnis zum Sauerstoffverbrauche wie auch zu jedem sonstigen Ausdruck für den Stoffwechsel „gar keine innere Bedeutung"; dann hat man in der Tat aber auch darauf verzichtet, „die Frage der Anteilnahme elementaren Stickstoffes zum Stoffwechsel" zu beantworten.

Alle angeführten Versuche wurden an Hunden unternommen, mit Ausnahme der meinigen, die sich auf Schmetterlingspuppen und Mäuse beziehen. Da Seegen und Nowak die Sauerstoffaufnahme der Tiere nicht bestimmt haben, rechnete ich ihre Angaben nach dem bis zu einem gewissen Grade willkürlich angenommenen Verbrauche von 1 Liter $O_2$ pro kg und Stunde um. Namentlich Regnault-Reisets Resultaten zufolge liegt guter Grund für die Annahme vor, daß Seegen und Nowaks Versuchshunde unter ganz den gleichen Bedingungen in allen Versuchen wirklich fast denselben Stoffwechsel gehabt haben würden.

Was meine eigenen Versuche betrifft, so wurden die hier angeführten Zahlen auf Grundlage dessen berechnet, was ich in meiner Abhandlung als „anscheinende Stickstoffausscheidung" bezeichnete.

Tabelle I.

| | Regnault-Reiset | Oppenheimer | Seegen-Nowak | Krogh |
|---|---|---|---|---|
| | + 1,1 | − 8,0 | + 6,4 | + 1,1 |
| | + 3,9 | 0 | + 6,5 | + 1,5 |
| | + 7,9 | + 2,2 | + 6,4 | + 1,0 |
| | + 3,5 | − 0,3 | + 6,5 | + 0,9 |
| | + 19,9 | − 0,1 | + 6,8 | + 0,6 |
| | + 15,7 | − 1,9 | + 6,5 | + 0,9 |
| | + 8,8 | − 1,4 | + 6,5 | + 0,6 |
| | + 0,7 | − 0,8 | + 6,1 | + 0,9 |
| | + 0,4 | − 0,3 | + 5,0 | + 0,6 |
| | + 9,1 | − 1,2 | | |
| | − 6,9 | − 4,7 | | |
| | 0 | − 3,2 | | |
| | | [+ 29,2] | | |
| | | [+ 12,3] | | |
| | | + 2,8 | | |
| | | [− 46,0] | | |
| Mittel | + 5,35 ± 2,15 | − 1,30 ± 0,75[1] | + 6,30 ± 0,17 | + 0,90 ± 0,10 |
| Mittlerer Fehler | ± 7,4 | ± 2,8 | ± 0,52 | ± 0,29 |
| Größte Abweichg. | + 14,6 | − 6,7 | − 1,3 | + 0,6 |

[1]) Bei der Berechnung des Mittels und des mittleren Fehlers habe ich aus Oppenheimers Versuchen die drei am meisten abweichenden, durch [ ] bezeichneten Resultate nicht mitgenommen. Bei zweien dieser Versuche wurde während des Versuches eine starke Abkühlung des Respirationsapparates unternommen. Gegen den dritten läßt sich anscheinend kein Einspruch erheben. Nimmt man diese drei mit, so findet man das Mittel — 1,35 ± 3,65, den mittleren Fehler ± 14,6 und die größte Abweichung — 44,65 ccm.

Diese Tabelle zeigt, daß Regnault-Reiset, Seegen-Nowak und ich, jeder für sich, zu dem Ergebnisse kamen, daß normalerweise Stickstoff ausgeschieden wird, Oppenheimer dagegen zu dem, daß solcher aufgenommen wird. Regnault-Reiset und Oppenheimer fanden, daß die Anteilnahme des Stickstoffes am Stoffwechsel bedeutenden Schwankungen unterliegt, Seegen-Nowak und ich dagegen, daß die Ausscheidung sehr konstant ist.

In meiner Arbeit habe ich nun nachgewiesen, daß der Stickstoff in der Tat fast gar nicht am respiratorischen Stoffwechsel teilnimmt, indem nur minimale Mengen ausgeschieden werden, und infolgedessen sind alle obenstehenden Resultate als ebenso viele Fehler zu betrachten. Diese Fehler sind teils systematischer Natur, d. h. von den respektiven Methoden unzertrennlich, was sich dadurch äußert, daß das Mittel von Null abweicht, teils aber „zufälliger" Natur, indem sie auf kleinen Abweichungen im Verfahren von Versuch zu Versuch, auf Ablesungsfehlern usw. beruhen. Für die „zufälligen" Fehler, die in der Abweichung der einzelnen Resultate vom Mittel zum Vorschein kommen, ist der mittlere Fehler, der in der einzelnen Bestimmung zu befürchtende Fehler, der mathematische Ausdruck. Die Aufgabe, die man sich zu stellen hat, besteht teils darin, die systematischen Fehler zu ermitteln und zu entfernen, teils darin, durch Schärfung der Methodik die „zufälligen" Fehler bis auf das möglichst Geringe herabzusetzen, und endlich darin, durch die Ausführung einer langen Reihe von Versuchen den Einfluß der zufälligen Fehler auf das Hauptergebnis zu vermindern. Ich beginne mit der Behandlung der systematischen Fehler, die es mir zu finden gelang.

1. In meiner Abhandlung habe ich ausführlich nachgewiesen, daß bei allen Versuchen im Regnaultschen Apparate eine Verminderung des Luftraumes stattfindet, die davon herrührt, daß das Kali und das Natron durch Bildung kohlensauren Salzes ihr Volumen erweitern, und die in letzter Instanz darauf beruht, daß der immerfort von außenher zugeführte Sauerstoff während des Versuches in flüssige Form übergeht und einen gewissen Rauminhalt einnimmt. Dies bewirkt einen positiven Fehler der Stickstoffbilanz, und die Größe der einzuführenden Korrektur läßt sich genau berechnen, wenn man die Kohlensäureproduktion kennt. Dieselbe wird, wenn das Stickstoffprozent der Luft des Apparates

80% ist, beinahe 0,95 ccm pro Liter erzeugter Kohlensäure. Nach Einführung dieser Korrektur[1]) in die oben angeführten Zahlenreihen finde ich folgende Ausscheidung von Stickstoff in Kubikzentimetern pro Liter aufgenommenen Sauerstoffs.

Tabelle II.

| | Regnault-Reiset | Oppenheimer | Seegen-Nowak | Krogh | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Puppen | Mäuse |
| | + 0,4 | —8,7 | +5,6 | +0,33 | —0,10 |
| | + 3,2 | —0,7 | +5,7 | +0,82 | +0,29 |
| | + 7,2 | +1,4 | +5,6 | +0,28 | 0,00 |
| | + 2,8 | —1,0 | +5,7 | +0,14 | +0,25 |
| | +19,2 | —0,8 | +6,0 | | +0,10 |
| | +15,0 | —2,6 | +5,7 | | |
| | + 8,1 | —2,05 | +5,7 | | |
| | + 0 | —1,65 | +5,3 | | |
| | — 0,5 | —0,85 | +4,2 | | |
| | + 8,2 | —1,85 | | | |
| | — 7,6 | —5,4 | | | |
| | — 0,6 | —3,9 | | | |
| | | +2,1 | | | |
| Mittel | +4,6±2,15 | —2,0±0,75 | +5,5±0,17 | +0,39±0,15 | +0,11±0,07 |
| Mittlerer Fehler | ± 7,4 | ±2,8 | ±0,52 | ±0,30 | ±0,16 |
| Größte Abweichg. | +14,6 | —6,7 | —1,3 | +0,43 | —0,21 |

Regnault-Reisets vorwiegend positive Zahlen nehmen ein wenig ab, Oppenheimers vorwiegend negative Zahlen nehmen zu, Seegen-Nowaks Zahlen werden um ca. ein Achtel ihres Wertes vermindert, und meine Zahlen sinken bis auf eine sehr geringe Größe herab.

Ich habe in meiner Abhandlung die Gründe angeführt, die dafür sprechen, daß mein Resultat weiter mit keinen anderen systematischen Fehlern behaftet ist, und daß wirklich normal eine äußerst geringe Ausscheidung von Stickstoff in Gasform stattfindet, nämlich bei Säugetieren als Ammoniak und bei den untersuchten Puppen als freier Stickstoff, der bei dem allmählichen Verbrennen der Fettstoffe des Puppenkörpers aus seiner Lösung befreit wird.

Was die Seegen-Nowakschen Versuche betrifft, glaube ich, die Wahrscheinlichkeit davon erwiesen zu haben, daß die

[1]) In Seegen-Nowaks Versuchen, wo man den Stoffwechsel nicht kennt, habe ich mit dem respiratorischen Quotienten 0,85 gerechnet.

gefundene Stickstoffausscheidung hauptsächlich von Unreinheit des zu den Versuchen benutzten Sauerstoffs herrührt, mithin ein systematischer Fehler ist, wogegen die „zufälligen“ Fehler, wie aus der vorzüglichen Übereinstimmung der einzelnen Resultate hervorgeht, auf ein Minimum herabgesetzt waren[1]).

Mit Bezug auf Regnault-Reisets Versuche sind Oppenheimer und ich darin einig, daß der positive systematische Fehler namentlich der Temperaturbestimmung zu verdanken ist, und ich habe dadurch, daß ich die einzelnen Versuche in ihren Details durchging, zu zeigen gesucht, daß auch die zufälligen Abweichungen und speziell die dann und wann gefundenen negativen Werte hierin ihre Erklärung finden.

Hinsichtlich der Versuche Oppenheimers ist es nun erforderlich, teils eine ziemlich bedeutende systematische Abweichung in negativer Richtung (mehr als 2 ccm pro Liter Sauerstoff) von dem wahren Werte, teils zufällige Fehler von recht bedeutender Größe (mittlerer Fehler des einzelnen Resultates von ± 2,8 ccm) zu erklären. Ich werde zu zeigen versuchen, daß die systematische Abweichung nicht von einem einzelnen Fehler, sondern von einer Kombination von Fehlerquellen herrührt, die in entgegengesetzten Richtungen gewirkt haben. Für einige dieser Fehlerquellen hat Oppenheimer ein offenes Auge gehabt, ohne daß es ihm jedoch gelungen wäre, dieselben zu beseitigen.

2. In der Beschreibung seiner Versuche und in den Protokollen über diese nennt Oppenheimer nirgends die Wasserdampfspannung, beim Nachrechnen sieht man aber, wie er von der Voraussetzung ausgegangen ist, daß die Luft im Apparate fortwährend mit Wasserdampf bei der herrschenden Temperatur gesättigt gewesen sei. Im Anfang der Versuche war der Apparat mit Zimmerluft gefüllt, die nicht wasserdampfgesättigt zu sein pflegt, es sei denn, daß man ganz besondere Vorsichtsmaßregeln getroffen hätte, um dies zu erzielen. Während der Versuche haben die Tiere bedeutende Wassermengen abgegeben, und es ist wahr-

---

[1]) Die von Oppenheimer bei Seegen und Nowak vermuteten Fehler, rücksichtlich der Temperaturbestimmung und der Zusammensetzung der schließlichen Luft, muß ich, u. a. nach den Resultaten von Seegen-Nowaks Kontrollversuchen (Arch. f. d. ges. Physiol. **25**, 389 bis 394) für belanglos halten, eine diesbezügliche Diskussion würde gewiß aber zu weit führen.

scheinlich, daß hierdurch die austrocknende Wirkung, die das starke Kali in den Ventilen zu gleicher Zeit auf die Luft ausgeübt hat, überkompensiert wurde, so daß die Wasserdampfspannung gestiegen ist. Dies wird sich im Versuche als ein Zuwachs des Stickstoffs oder ein positiver Fehler der N-Bilanz erweisen.

**3.** Während über die Zusammensetzung der Luft im Anfang der Versuche nur mitgeteilt wird, sie sei „aus der mittleren bekannten Zusammensetzung der Zimmerluft" bestimmt, wird angegeben, daß die Luftprobe aus dem Schlusse des Versuches in eine mit Wasser gefüllte Röhre aufgenommen und darauf über Wasser im Zuntz-Geppertschen Apparate analysiert wurde.

Luftanalysen über Wasser sind im ganzen nur wenig geeignet, völlig exakte Resultate zu geben, weil alle Gase im Wasser löslich sind, besonders ungünstig stellt sich die Sache aber, wenn die Analysen dazu gebraucht werden sollen, Luftmischungen von verschiedenem Kohlensäuregehalt miteinander zu vergleichen, wie dies in Oppenheimers Versuchen der Fall war, indem die anfängliche Luft durchweg ca. 0,1% Kohlensäure enthielt, während in den Luftproben aus dem Schlusse der Versuche bis 2,3% und gewöhnlich ca. 1% gefunden wurde. Es läßt sich nicht vermeiden, daß ein Teil dieser Kohlensäure im Wasser absorbiert wird, bevor man die Messung der Luftmenge im Analyseapparate selber unternimmt, und dies wird bewirken, teils daß man selbstverständlich ein zu niedriges $CO_2$-Prozent findet[1]), teils daß man ein höheres Stickstoffprozent als das wirkliche erhält. Werden aus einer Luftmischung von 80% $N_2$, 19% $O_2$ und 1% $CO_2$ vor der Analyse

---

[1]) Oppenheimer gibt an, daß die Bestimmung der in der Kalilauge absorbierten $CO_2$ bei Titrierung konstant (durchschnittlich um ca. 5%) höhere Werte gab als bei Auspumpen und darauffolgender Luftanalyse. Wurden auch diese Analysen über Wasser angestellt, so läßt dieses Resultat sich leicht verstehen, und alsdann ist das Titrierungsresultat das zuverlässigste. Dies erscheint auch aus den Versuchen selbst hervorzugehen: Sollten die gefundenen respiratorischen Quotienten, die nach den Titrierungsresultaten berechnet wurden, um ca. 5% vermindert werden, so würden mehrere derselben niedriger werden, als sie mit irgend welcher Wahrscheinlichkeit sein können.

Eine Arbeit von v. Linden, in welcher u. a. eine kolossale Teilnahme des Stickstoffs am respiratorischen Stoffwechsel bei Puppen „nachgewiesen" wird, und von welcher Oppenheimer mit Recht Abstand nimmt, bietet übrigens ein klassisches Beispiel dar, welche ungeheuren Fehler die Analyse kohlensäurereicher Luftmischungen über Wasser herbeiführen kann.

auch nur 0,05% $CO_2$ absorbiert, so würde die Zusammensetzung 80,04% $N_2$, 19,01% $O_2$ und 0,95% $CO_2$ werden, also ein sehr ernstlicher positiver Fehler der Stickstoffbilanz.

4. Was die Bestimmung der Temperatur und des Druckes betrifft, so glaubt Oppenheimer, einen sehr wesentlichen Fortschritt im Vergleich mit seinen Vorgängern dadurch erreicht zu haben, daß er das sogenannte Thermobarometer anwandte, eine lange, mit Luft angefüllte Metallröhre, die den Respirationskasten mehrfach gebogen durchzieht und mit einem Manometer in Verbindung steht. Er nimmt an, daß diese Röhre „Mittelwerte der innen herrschenden Temperatur" gebe. Unbestreitbar und durch Oppenheimers Untersuchungen direkt dargetan ist es, daß dieses Instrument einen Fortschritt von Regnault-Reisets Temperaturmessung im umgebenden Wasser bezeichnet, anderseits ist es aber mehr als zweifelhaft, und jedenfalls ist durchaus kein Beweis dafür versucht worden, daß dasselbe mehr leiste als ein im Inneren des Kastens angebrachtes gewöhnliches Thermometer.

Oppenheimer fand, daß ein als Thermobarometer angewandtes Kupferrohr „durch Sauerstoffabsorption erhebliche Fehler bedingte", und verwendet deshalb stark verzinntes Kupfer; aber auch Zinn oxydiert sich, wenn auch langsam, in der Luft, so daß kleine Fehler bei der Sauerstoffabsorption unvermeidlich zu sein scheinen.

Ein anderer Einwurf bezieht sich auf die Wasserdampfspannung. Theoretisch soll diese der niedrigsten, in irgend einem Teile des Rohrs vorhandenen Temperatur entsprechen, indem das Wasser nach dieser Stelle destillieren wird. In der Praxis wird sie freilich wohl etwas höher werden, solange die Wände des Rohres überall feucht sind, indem die Destillation sehr langsam erfolgt; eine exakte Temperaturmessung mittels eines feuchten Luftthermometers hat man aber doch immer für unmöglich gehalten, und gelingt es dem Wasser, sich an der kältesten Stelle zu sammeln, so kann der Fehler beträchtlich werden.

Der dritte und hauptsächlichste Einwurf ist der, daß das Rohr des Thermobarometers infolge seiner Anbringung längs der Wand des Respirationskastens unter keinen Umständen die mittlere Temperatur im Kasten anzugeben vermag, wenn die Wärmequelle (das Tier) sich in dessen Mitte befindet.

Die Temperatur des Thermobarometers wird in Wirklichkeit bestimmt teils durch Leitung aus der direkt umgebenden Luft, deren Temperatur normal niedriger als die Durchschnittstemperatur des Kastens sein wird, teils, und zwar wegen der großen Oberfläche in sehr wesentlichem Maße, durch Ausstrahlung vom Tiere nach dem Rohre und von diesem nach den Wänden des Kastens. Da die Wände näher liegen, werden sie den Haupteinfluß auf die Temperatur des Apparats erhalten, die fast stets erheblich geringer als die Durchschnittstemperatur der Luft im Kasten sein wird. Daß dies sich so verhält, hat Oppenheimer mit Rücksicht auf zwei Versuche, wo die Temperatur des Wasserbades künstlich herabgesetzt wurde, selbst nachgewiesen und richtig erkannt. Von diesen sagt er (S. 463): „Nun, es ist so gut wie sicher, daß in diesem Falle auch das Thermobarometer zu niedrige Werte ergeben muß. Denn es liegt doch in seiner ganzen Länge der Wand des Kastens an. Wird nun diese Wand von allen Seiten her durch Eis und sehr kaltes Wasser stark abgekühlt, so kann man mit Sicherheit annehmen, daß sich ein sehr starkes Temperaturgefälle von dem warmen Tier zu der kalten Wand ausbilden wird, ein Temperaturgefälle, bei dem auch das Thermobarometer nicht die wahre Durchschnittstemperatur des Kastens angeben kann, da es der Wand sehr benachbart ist." Dies muß selbstverständlich von allen Versuchen gelten, wo sich überhaupt ein Temperaturgefälle vom Tiere (37°) zur Wand (15—20°) findet.

Ist die wirkliche Mitteltemperatur höher als die angenommene, so erhält man einen positiven Fehler der N-Bilanz, und zwar einen um so größeren, je größer der Temperaturunterschied ist. In den beiden genannten Abkühlungsversuchen ergab das schließliche Resultat positive Fehler von 730 bzw. 370 ccm Stickstoff oder 29,2 und 12,3 ccm pro Liter Sauerstoff. In den meisten „normalen" Versuchen ist dieser, wie auch die oben nachgewiesenen und noch ein fünfter positiver Fehler von den negativen Fehlern, die ich weiter unten diskutieren werde, völlig in Schatten gestellt worden.

Oppenheimer ist darüber im reinen, daß der Anfang und der Abschluß eines Versuches „eine Reihe von kleinen, aber gar nicht zu schätzenden Fehlern" veranlassen (S. 436). Einen Versuch beginnt er folgendermaßen: In den Respirationskasten, dessen Temperatur und Luftzusammensetzung man vorher be-

stimmt hat, wird das Tier hineingeführt, und der Deckel wird angebracht und durch sechs Flügelmuttern festgeschraubt. Erst dann wird die Verbindung mit der äußeren Luft unterbrochen, indem die Leitungsröhre und das Thermobarometer, mittels dessen man die Druck- und Temperaturveränderungen bestimmen will, verschlossen werden. Die hierdurch entstehenden Fehler sind keineswegs unerheblich, anderseits ist es denn aber auch nicht unmöglich, sie zu ermitteln, wenn auch ihre quantitative Bedeutung sich nicht nachträglich durch die gegebenen Aufschlüsse ausfindig machen läßt.

5. Derjenige Fehler, mit dem man am leichtesten abrechnen kann, rührt von der Veränderung der Luftzusammensetzung her. Nehmen wir an, daß man in einem Versuche eine Sauerstoffaufnahme von 100 ccm pro Minute und eine entsprechende Kohlensäureausscheidung von 75 ccm findet, was bei Oppenheimers Versuchen die Regel war, wie auch, daß von der Anbringung des Tieres bis zum Schließen des Kastens und der Unterbrechung der Verbindung mit der Atmosphäre eine Minute verfließt. Es sind dann ohne Ersatz 25 ccm Sauerstoff aus der Luft des Respirationsraumes verschwunden. Diese 25 ccm strömen von außenher hinzu, und wir bekommen einen positiven Fehler der N-Bilanz von $25 \times \frac{79}{100}$ ccm oder ca. 20 ccm für jede Minute, die von der Anbringung des Tieres an bis zur Unterbrechung der Verbindung mit der Atmosphäre verstreicht.

6. Während das Tier die Zusammensetzung der Luft verändert, vermehrt es, wenigstens in der Regel, zugleich die Wasserdampfspannung. Hierdurch wird Luft aus dem Kasten herausgetrieben und mithin ein negativer Fehler der N-Bilanz bewirkt, der gewiß doch nur von geringer Größe ist.

7. Endlich verändert das Tier die Temperatur der Luft des Kastens. Wie genannt, verbrauchen Oppenheimers Versuchshunde durchweg ca. 100 ccm Sauerstoff pro Minute, was einer Wärmeentwicklung von wenigstens 450 calorien entspricht, die genügen, um die Temperatur von 1800 g Luft um 1° oder die Temperatur der Luft in Oppenheimers Respirationskasten, 160 l, um ca. 8° zu erhöhen. Selbst wenn ein Teil dieser Wärme zur Verdampfung von Wasser verbraucht und ein anderer Teil sofort an die Wände des Kastens abgegeben wird, so ist

doch eine bedeutende Erwärmung und Erweiterung der Luft im Kasten völlig unvermeidlich, um so mehr, da nicht ventiliert wird. Bevor man den Kasten gänzlich verschließen kann, wird ein großer Verlust an Stickstoff stattfinden, und hier treffen wir denjenigen Fehler in negativer Richtung an, der nicht allein die oben angegebenen positiven Fehler zu decken vermag, sondern außerdem auch in der weitaus vorwiegenden Anzahl der Versuche in der Stickstoffbilanz einen bedeutenden Fehlbetrag bewirkt hat, so wie dieser sich durch das negative Mittel äußert.

Indem ich einige kleine Fehler übergehe, die erst von Bedeutung werden könnten, wenn die Versuche eine weit größere Genauigkeit als die hier in Frage kommende bezweckten, schreite ich nun zur Diskussion der „zufälligen" Fehler, denen die großen individuellen Schwankungen in Oppenheimers Versuchsresultaten zu verdanken sind.

8. Oppenheimer selbst legt hier den Gasanalysen das Hauptgewicht bei und kommt mittels einer Schätzung, die sich nicht diskutieren läßt, da sie sich nicht auf veröffentlichte Tatsachen stützt, zu dem Ergebnisse, daß die „größte Genauigkeit" für die Untersuchung des Kastengases 0,02% sei, während die Sauerstoffanalyse mit „einem Fehler von mindestens 0,03%" behaftet sei. Schon die Analysen allein könnten nach ihm leicht Fehler des Resultates von $\pm$ 100 ccm herbeiführen. Ich bin zu der Ansicht geneigt, daß er hiermit die Genauigkeit bedeutend unterschätzt hat, weil ich zu der Erfahrung gekommen bin, daß man, wenn es sich wie hier um Differenzen zwischen verschiedenen fast gleichzeitigen Analysen mittels desselben Apparates handelt, in der Regel größere Genauigkeit erzielt, als man nach den Fehlergrenzen der einzelnen Analysen erwarten sollte; hat Oppenheimer aber Recht mit seiner Schätzung, so ist dazu nur zu bemerken, daß eine viel größere Genauigkeit hätte mit der modernen gasanalytischen Technik erreicht werden können. Es wird nicht das Geringste dem im Wege stehen, den Fehler der Analyse für einen Apparat von 160 l auf ca. 10 ccm oder noch weiter herabzusetzen.

9. Die zur Analyse bestimmten Luftproben werden in Oppenheimers Versuchen nicht direkt dem Kasten, sondern einer der Leitungen zwischen dem Kasten und den Kaliventilen entnommen.

Es wird keine Gewähr geleistet, daß die Zusammensetzung dieser Luft der durchschnittlichen Zusammensetzung der Luft des Kastens entspricht, und wenn keine besonderen Vorsichtsmaßregeln genommen wurden, worüber nichts gesagt wird, so muß erstere zuweilen von letzterer abweichen, nämlich wenn die Ventilation unterbrochen wird, während die Leitung mit Luft angefüllt ist, die aus der Kalilauge kommt. Die Luftprobe wird dann ein Gemisch kohlensäurefreier (stickstoffreicher) Luft aus dem Rohre und kohlensäurehaltiger (stickstoffärmerer) Luft aus dem Respirationskasten. Wie große Fehler auf diesem Wege entstehen können, läßt sich nicht entscheiden. Da über die Größe der Ventilation keine Aufschlüsse vorliegen, läßt sich auch nicht entscheiden, ob dieselbe genügte, um Sicherheit zu geben, daß die Luft überall im Kasten selbst dieselbe Zusammensetzung hatte.

Einige der durchgegangenen systematischen Fehler sind quantitativ von Versuch zu Versuch ziemlich konstant, während andere sehr schwankende Ausschläge geben können. Die Schwankungen erweisen sich als „zufällige" Fehler.

10. Dies gilt besonders von den Temperaturbestimmungen mittels des Thermobarometers, die von dem „zufälligen" Verhältnisse der Temperatur des Wasserbades zu der des Respirationsraumes beim Schlusse des Versuches abhängig sein werden, und

11. von dem Verluste an Stickstoff wegen der Erweiterung der Luft im Anfang des Versuches. Die Größe desselben ist in sehr hohem Grade von dem Zeitraum abhängig, der zufällig von der Anbringung des Tieres an bis zum Verschluß des Kastens verstreicht. Abweichungen von wenigen Sekunden können hier sehr merkbare Ausschläge geben. Besonders durch diese beiden Fehler lassen sich die einzelnen sehr großen Exkursionen von der Mittelzahl zwanglos erklären.

Inwiefern und auf welche Weise lassen sich nun alle diese Fehler vermeiden oder abschwächen?

In der Hauptsache dadurch, daß man eine wichtige, von Seegen und Nowak eingeführte Modifikation der Regnaultschen Methodik anwendet, die Oppenheimer jedoch unbeachtet ließ. Dieselbe besteht darin, daß man den eigentlichen Versuch erst dann beginnen läßt, d. h. Ablesungen und Entnahmen von

Luftproben erst dann unternimmt, wenn der Respirationsapparat schon eine Zeitlang, am liebsten eine Stunde oder darüber, in Gang gewesen ist. Hierdurch erreicht man, daß die Bedingungen beim Anfang wesentlich die gleichen werden wie beim Abschluß. Die Luft hat dann ein gewisses Kohlensäureprozent erhalten, das sich später nicht besonders verändert, sie ist mit Wasserdampf gesättigt worden, soweit sie dies überhaupt wird, die Wirkung des Tieres auf die Temperatur im Kasten ist zur Entwicklung gelangt und verändert sich darauf normal nur in geringem Grade. Auch wenn man durch ein einzelnes Thermometer im Inneren des Respirationsraumes möglicherweise nicht die wirkliche Mitteltemperatur bestimmt, hat man alle Aussicht, beim Schlusse des Versuches genau dieselben Fehler zu begehen wie bei dessen Anfang. Selbst wenn die Entnahme von Proben an einer bestimmten Stelle des Respirationskastens geschieht, und selbst wenn die Probe die mittlere Zusammensetzung der Luft auch nicht völlig repräsentiert, ist es doch auch in dieser Beziehung wahrscheinlich, daß der Fehler konstant wird, so daß das Versuchsresultat keinen Einfluß erleidet. Veränderung der Luftzusammensetzung, der Temperatur usw. bei der Anbringung des Tieres erhält durchaus keinen Einfluß.

Mit anderen Worten, wenn die umgebende Temperatur einigermaßen konstant erhalten wird, bleiben keine anderen ernstlichen zufälligen Fehler zurück als die Fehler der Analyse, und die systematischen Fehler werden auf möglichen Stickstoffgehalt des Sauerstoffes und Volumverminderung wegen der Absorption der Kohlensäure reduziert. Das ist, was Seegen und Nowak schon vor 30 Jahren erzielten, und hierin liegt die Erklärung der vorzüglichen Übereinstimmung ihrer Resultate.

Mit der uns jetzt zur Verfügung stehenden Technik kann man noch etwas weiter gelangen, indem Seegen-Nowaks Methodik sich verbessern läßt, besonders in zwei Beziehungen. Man kann den Respirationskasten in Wasser versenken und die Temperatur des letzteren völlig konstant erhalten, und man kann z. B. mittels elektrischer Ventilatoren eine so energische Mischung der Luft im Kasten herstellen, daß deren Zusammensetzung, Wasserdampfspannung und Temperatur überall dieselben werden und sich mit völliger Genauigkeit bestimmen lassen. Zugleich kann der Fehler der Gasanalysen, wie gesagt, so weit herabgesetzt

werden, daß es keine ernstliche Schwierigkeiten bereiten wird, Versuche mit einem Apparat von 200 l zu machen, ohne größere Fehler als 10 ccm zu erhalten. Wird ein Versuch dann nur über einen so großen Zeitraum ausgedehnt, daß der Sauerstoffverbrauch 100 l beträgt, so hat man eine Genauigkeit von $\frac{1}{10000}$ des aufgenommenen Sauerstoffs. Länger fortgesetzte Versuche werden vielleicht noch bessere Resultate geben können.

---

# Bemerkungen zu der Mitteilung von Krogh.

Von
**Carl Oppenheimer.**

*(Eingegangen am 19. Oktober 1907.)*

Auf die Ausstellungen von Krogh möchte ich heute nur folgendes erwidern: In einigen Punkten erkenne ich ohne weiteres die Berechtigung der Angaben von Krogh an. Es handelt sich dabei um auch von mir angegebene Fehler, die ev. zu verkleinern sind. In anderen wesentlichen Punkten muß ich dagegen auf meinem Standpunkt stehen bleiben. Ich ziehe es aber vor, eine genaue Diskussion der sachlichen Fragen gelegentlich der Publikation der weiteren Versuche, die ich mit meinem Apparat angestellt habe und noch anstelle, zu geben.

# Versuche über den Chemismus der Kresolvergiftung.

Von

**Ferdinand Blumenthal und Ernst Jacoby.**

(Aus der I. med. Universitätsklinik zu Berlin: Direktor: Excellenz.)

*(Eingegangen am 10. Oktober 1907.)*

Der eine von uns (Bl.) hat in einer früher in dieser Zeitschrift[1]) veröffentlichten Arbeit mitgeteilt, daß das Kresol eine besondere Affinität zum Fettgewebe hat, und ferner, daß der Angriff des Kresols im Organismus hauptsächlich in der Nervensubstanz vor sich geht. Von anderer Seite war nun behauptet worden (Wandel[2]), daß bei der Lysolvergiftung insbesondere die Leberzellen histologisch starke Veränderungen aufweisen, und daß daher auch dieses Organ für die Frage der Lysol- resp. Kresolvergiftung im hohen Maße in Betracht kommt. Wir wollen nun keineswegs leugnen, daß die Leber, ja auch andere Organe, bei der Vergiftung mit Kresol geschädigt werden können. Es kommt doch aber bei einer Vergiftung, welche zum Tode führt, in erster Linie darauf an, welches Organ so geschädigt wird, daß der Tod eintritt, und hier schien es nach den früheren Untersuchungen von Bl., als ob das Gehirn resp. das Nervensystem durch die Aufnahme von Kresol in die Nervensubstanz jene Krämpfe herorrief, die dann indirekt auf Herz und Atmung einwirkten und dieselben zum Stillstand brachten. Wenn nun in der Tat die Aufnahme des Kresols durch die Nervensubstanz den Tod der Lysoltiere herbeiführt, so mußte bei solchen Tieren, welche eine Lysolvergiftung überstanden, weit weniger Lysol im Nervensystem sich aufgespeichert finden, als bei den Tieren, welche die Vergiftung nicht ertrugen. In einer Reihe sehr schöner Untersuchungen hatte

---

[1]) Diese Zeitschr. 1, 135, 1906.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 65, 1907.

Friedländer[1]) gezeigt, daß, wenn er entsprechend der von Bl. gemachten Erfahrung, daß das Lysol zur Fettsubstanz eine starke Affinität hat, große, sonst tödliche Dosen Lysol mit Öl vermischt den Versuchstieren (Kaninchen) eingab, daß diese Tiere dann, ohne wesentliche Krankheitserscheinungen zu zeigen, am Leben blieben. War unsere Deduktion richtig, dann mußte bei diesen mit Öl-Lysol-Gemischen behandelten Tieren eine geringere Menge Kresol in das Gehirn eindringen als bei ohne Ölzusatz vergifteten Lysoltieren, und damit das Durchkommen der Tiere in Verbindung stehen. Wir stellten nun die Versuche in folgender Weise an, daß wir eine Anzahl von Kaninchen von annähernd gleichem Gewicht mit Lysol, das wir mit Wasser verdünnt hatten, durch Eingießen in den Magen vergifteten, und einer anderen Reihe von Tieren aus dem gleichen Wurf und von ungefähr gleichem Gewicht dieselbe Menge Lysol mit Olivenöl verdünnt gaben. In dem Augenblick, in welchem die Lysol-Wasser-Tiere spontan starben, wurde das entsprechende Lysol-Öl-Tier, das vollkommen munter war, getötet und in beiden Fällen das Gehirn auf seinen Gehalt an Kresol untersucht. Dabei zeigte sich nun, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, daß alle mit Lysol und Wasser behandelten Tiere (Wassertiere) im Augenblick ihres Todes ungefähr die gleiche Menge Kresol in ihrer Gehirnsubstanz beherbergten, nämlich zwischen 0,0049 g und 0,0057 g, während die Öl-Tiere weit geringere Mengen in ihrem Gehirn aufwiesen, zwischen 0,0014 bis 0,0031 g. Es geht daraus hervor, daß die Tiere an Lysol- resp. an Kresolvergiftung in dem Augenblick starben, wo ihr Gehirn mit einer bestimmten Menge Kresol beladen war, und daß die Öl-Tiere nur deshalb durchkommen, weil das Kresol langsamer oder in geringerer Menge aus der Ölmischung in die Nervensubstanz eindringt. Wie sehr es auf die in das Gehirn eingedrungene Kresolmenge ankommt, kann man daraus ersehen, daß die Menge des Kresols im Gehirn vollkommen unabhängig ist von der Lysoldosis, mit welcher die Tiere vergiftet worden sind. Es ist nicht mehr Kresol im Gehirn nachweisbar, wenn das Tier 10 g Lysol bekommen hat, als wenn es 5 g erhielt. In besonderer Weise zeigt auch der Versuch 6 die Wichtigkeit des Eindringens der Menge Kresol in das Gehirn für die Vergiftung des Tieres. Bei diesem

[1]) Therap. Monatsh. **1907** u. Berl. Klin. Wochenschr. **1907**.

Tiere wurden nur 0,0019 g Kresol im Gehirn gefunden, das Tier war durchgekommen. Es wurde erst nach vier Stunden getötet, als die Vergiftungserscheinungen vollkommen vorüber waren. Auch die Zeit, in welcher die Vergiftung wirkt, hat keinen Einfluß auf die Menge des Kresols im Gehirn. Ein Tier, das erst nach zwei Stunden starb, zeigte genau dieselbe Menge Kresol, wie dasjenige Tier, welches bereits nach 10 oder 15 Minuten zugrunde ging. Unsere Untersuchungen berechtigen uns also zu dem Schluß, daß der Tod des Kaninchens bei der Lysol- resp. Kresolvergiftung eintritt durch Eindringen von Kresol in die Gehirnsubstanz, und zwar in dem Augenblick, in welchem eine ganz bestimmte Menge Kresol in der Nervensubstanz des Gehirns aufgespeichert ist.

Die anderen Organe zeigen keine solche Regelmäßigkeit in der Aufnahme des Kresols. Allerdings ist bei sämtlichen Öl-Tieren auch hier im Durchschnitt die in diese Organe übertretende Kresolmenge kleiner, was daran denken ließe, daß überhaupt aus der Kresol-Öl-Mischung weniger Kresol- resp. langsamer in die Zirkulation übergeht. Die Resultate sprechen für die Zweckmäßigkeit des Friedländerschen Vorschlages, bei Lysolvergifteten Öl als Heilmittel anzuwenden. Das Kresol wird aber bei der Lysol-Öl-Vergiftung, wie die Untersuchungen am Harn solcher Kaninchen zeigten, schon ziemlich schnell ausgeschieden, wie es scheint, noch schneller als bei Lysol-Wasser-Tieren. Einem Kaninchen Nr. XII von 1920 g wurden 3 g Lysol in 50 ccm Olivenöl verdünnt in den Magen gegossen.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Am ersten | Tage schied es aus | 0,322 g | Kresol |
| „ zweiten | „ „ „ „ | 0,0936 g | „ |
| „ dritten | „ „ „ „ | 0,1065 g | „ |
| „ vierten | „ „ „ „ | 0,0426 g | „ |
| „ fünften | „ „ „ „ | 0,006 g | „ |

Ein zweites Kaninchen Nr. XIII von 2000 g, das die gleiche Menge Lysol mit Olivenöl wie XII erhalten hatte, schied aus:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Am ersten | Tage . . . . . . . | 0,236 g | Kresol |
| „ zweiten | „ . . . . . . . | 0,1048 g | „ |
| „ dritten | „ . . . . . . . | 0,030 g | „ |
| „ vierten | „ . . . . . . . | 0,0248 g | „ |
| „ fünften | „ . . . . . . . | 0,0246 g | „ |

Kaninchen Nr. XIV, Gewicht 1650 g, erhielt die gleiche Menge Lysol-Olivenöl wie XII und schied aus:

| | | |
|---|---|---|
| Am ersten Tage | . . . . . . . | 0,2099 g Kresol |
| „ zweiten „ | . . . . . . . | 0,0159 g „ |
| „ dritten „ | . . . . . . . | 0,0110 g „ |
| „ vierten „ | . . . . . . . | nicht untersucht |
| „ fünften „ | . . . . . . . | 0,09297 g Kresol |
| „ sechsten „ | . . . . . . . | 0,0283 g „ |
| „ siebenten „ | . . . . . . . | 0,0152 g „ |

Kaninchen Nr. XV, Gewicht 1730 g, erhält 2 g Lysol plus 50 g Olivenöl und schied aus:

| | | |
|---|---|---|
| Am ersten Tage | . . . . . . . | 0,2315 g Kresol |
| „ zweiten „ | . . . . . . . | 0,0211 g „ |

während das Kaninchen Nr. XVI, Gewicht 1790 g, das 2 g Lysol plus 50 g Wasser erhalten hatte, ausschied:

| | | |
|---|---|---|
| Am ersten Tage | . . . . . . . | 0,149 g Kresol |
| „ zweiten „ | . . . . . . . | 0,0060 g „ |
| „ dritten „ | . . . . . . . | 0,022 g „ |
| „ vierten „ | . . . . . . . | 0,055 g „ |
| „ fünften „ | . . . . . . . | 0,0154 g „ |
| „ sechsten „ | . . . . . . . | 0,01675 g „ |
| „ siebenten „ | . . . . . . . | 0,0161 g „ |

Es scheint also nach diesen Ausscheidungsresultaten, als ob das Kresol aus dem Magen, wenn es mit Olivenöl vermischt ist, ebenso schnell resorbiert wird wie in wässeriger Lösung. Daher muß man, da doch solche Kaninchen weniger Kresol im Gehirn und in ihren anderen Organen aufweisen, die Annahme machen, daß die gleichzeitige Resorption von Kresol mit Olivenöl aus dem Magen eine Ablagerung von Kresol in den Organzellen hindert, und so in der Blutbahn selbst, resp. in dem Gewebe noch die schützende Wirkung des Öls sich zeigt.

### A. Wassertiere.

Kaninchen I: Gewicht 1750 g, 5 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach zwei Stunden (längste Zeit).

Leber . . . . . . . . . . . 0,016 g Kresol
Lunge . . . . . . . . . . . 0,0045 g „
Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0054 g „

Kaninchen II: Gewicht 1850 g, 7 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 30 Minuten.

Leber . . . . . . . . . . . 0,0432 g Kresol
Lunge . . . . . . . . . . . 0,0072 g „
Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0057 g „

Kaninchen III: Gewicht 1860 g, 7 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 35 Minuten.

Leber . . . . . . . . . . . 0,0327 g Kresol
Lunge . . . . . . . . . . . 0,0059 g „
Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0054 g „

Kaninchen IV: Gewicht 2000 g, 10 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 40 Minuten.

Leber . . . . . . . . . . . 0,044 g Kresol
Lunge . . . . . . . . . . . 0,0057 g „
Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0054 g „

Kaninchen V: Gewicht 1830 g, 10 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 45 Minuten.

Leber . . . . . . . . . . . 0,0409 g Kresol
Lunge . . . . . . . . . . . 0,0061 g „
Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0055 g „

Kaninchen VI: Gewicht 1750 g, 3 g Lysol und 50 g Wasser (wurde nach vier Stunden getötet).

Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0019 g Kresol

Kaninchen VII: Gewicht 1620 g, 6 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 10 Minuten.

Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0049 g Kresol

Kaninchen VIII: Gewicht 1800 g, 9 g Lysol und 50 g Wasser, Tod nach 15 Minuten.

Gehirn . . . . . . . . . . . 0,0051 g Kresol

### B. Öltiere.

Kaninchen IX: Gewicht 1790 g, 5 g Lysol und 50 g Olivenöl (nach zwei Stunden getötet; längste Zeit!).

| | |
|---|---|
| Leber . . . . . . . . . . . | 0,011 g Kresol |
| Lunge . . . . . . . . . . . | 0,001 g „ |
| Gehirn . . . . . . . . . . . | 0,0014 g „ |

(wurde nach vier Stunden getötet).

Kaninchen X: Gewicht 1750 g, 7 g Lysol und 50 g Olivenöl (nach 30 Minuten getötet).

| | |
|---|---|
| Leber . . . . . . . . . . . | 0,0228 g Kresol |
| Lunge . . . . . . . . . . . | 0,0030 g „ |
| Gehirn . . . . . . . . . . . | 0,0034 g „ |

Kaninchen XI: Gewicht 1600 g, 7 g Lysol und 50 g Olivenöl (nach 35 Minuten getötet).

| | |
|---|---|
| Leber . . . . . . . . . . . | 0,0228 g Kresol |
| Lunge . . . . . . . . . . . | 0,0054 g „ |
| Gehirn . . . . . . . . . . . | 0,0034 g „ |

# Enzymstudien.

Von

**S. P. L. Sörensen.**

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1907.)*

Im Verlaufe der letzten sechs Jahre sind im hiesigen Laboratorium von meinen Mitarbeitern und mir eine Reihe Untersuchungen über enzymatische, besonders proteolytische Spaltungen ausgeführt worden. Da diese Untersuchungen in mehreren Punkten miteinander nahe verknüpft sind, werden sie, wenn sie zu einem passenden Abschluß gebracht worden sind, sämtlich unter obigem gemeinschaftlichen Titel in den „Comptes Rendus du Laboratoire de Carlsberg" veröffentlicht werden. Die vorliegende Abhandlung[1]) bildet den ersten Abschnitt dieser Reihe.

## I. Über die quantitative Messung proteolytischer Spaltungen. „Die Formoltitrierung."



---

[1]) Compt. rend. du Lab. de Carlsberg 7, 1, 1907.

### *A. Die bisher angewandten Methoden.*

Unter einer „Proteolyse" oder proteolytischen Spaltung versteht man, wie bekannt, eine durch ein proteolytisches Enzym hergestellte Zersetzung eines genuinen oder schon zum Teil gespaltenen Proteinstoffes in einfachere Verbindungen. Durch eine solche Spaltung werden die physikalischen Eigenschaften der vorliegenden Lösung (wie Koagulierbarkeit, Viscosität, elektrische Leitfähigkeit, das Verhältnis dem polarisierten Licht gegenüber usw.) gewöhnlich geändert, und dasselbe gilt von dem Verhalten gewissen Fällungs- bzw. Aussalzungsmitteln gegenüber (starken Säuren, Metallsalzen, Alkaloidreagenzien wie Gerbsäure, Phosphorwolframsäure — Natriumchlorid, Zinksulfat usw.). Als quantitatives Maß für den Umfang der Spaltung benutzt man dann gewöhnlich die durch die Proteolyse verursachte auf die eine oder andere Weise meßbare Änderung einer passenden physikalischen Eigenschaft oder gegenüber einem passenden Fällungs- oder Aussalzungsmittel. Es ist aber leicht einzusehen, daß bei einer solchen Messung nicht gerade das gemessen wird, was zu messen ist. Nehmen wir beispielsweise an, daß eine vorliegende Lösung (mit einem Gesamtstickstoffgehalt von 52 mg Stickstoff, vgl. Versuch Nr. 5, S. 92) zu Anfang einer Proteolyse 7 mg mit Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoff enthält, während nach sechsstündiger Proteolyse 25 mg und nach einer weiteren sechstägigen Proteolyse 42 mg mit Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoffes anwesend sind. Aus einem solchen Versuchsergebnisse wird man ganz unwillkürlich den Schluß ziehen, daß die Ausdehnung der Proteolyse während der ersten 6 Stunden mindestens ebenso groß gewesen ist als in den folgenden 6 Tagen, indem der Zuwachs an nicht fällbarem Stickstoff 18 bzw. 17 mg Stickstoff beträgt. Eine solche Folgerung ist aber nicht ganz zutreffend; denn ihre Voraussetzungen, erstens daß die beim Schlusse des Versuches mit Gerbsäure fällbaren Substanzen während der Proteolyse gar nicht beeinflußt worden seien, und zweitens, daß die mit Gerbsäure nicht fällbaren Produkte keiner weiteren Spaltung fähig seien, sind nicht stichhaltig. Die Aufgabe ist die, den Umfang der Proteolyse zu messen, die Messung gibt aber nur darüber Auskunft, welche Menge des vorhandenen Proteinstoffes bis zu einer bestimmten Grenze zersetzt worden ist. Bei Anwendung von verschiedenen Fällungs- bzw. Aussalzungs-

mitteln liegt diese Grenze bei verschiedenen Stadien des Abbaues, und es ist daher möglich, durch Fällung mit mehreren Fällungsmitteln, wie es z. B. H. Schjerning systematisch getan hat, oder durch fraktionierte Aussalzung, wie Hofmeister und seine Schüler sie angewendet haben, zu einer wertvollen Schätzung über die Ausdehnung der Proteolyse zu gelangen; von einer wirklichen quantitativen Messung kann aber nicht geredet werden

Das hier Gesagte gilt in noch höherem Maße, wenn es sich darum handelt, die Änderung irgend einer physikalischen Eigenschaft zu messen, indem es gewöhnlich ganz willkürlich ist, die diesbezügliche Änderung als dem Umfang der Spaltung proportional anzusehen. Nur bei Spaltungen dermaßen einfacher Verbindungen, daß die Art und Menge der Spaltprodukte genau bekannt sind, und es möglich ist, im voraus zu bestimmen auf welche Weise willkürlich gewählte Mischungen der Verbindung und ihrer Spaltprodukte sich verhalten, kann diese Meßmethode zuverlässige Resultate liefern. Dies gilt z. B. von den neuerdings von H. Euler[1]) veröffentlichten Untersuchungen über die Erepsinspaltung des Glycylglycins (Messung der elektrischen Leitfähigkeit nach Zusatz passender Mengen Natriumhydroxyd), wie auch von der von E. Abderhalden und A. H. Koelker[2]) vorgeschlagenen Methode zur Messung proteolytischer Wirkungen (Spaltung optisch aktiver Polypeptiden und Messung der Änderung des Drehungsvermögens). In gewissen Fällen können solche Methoden sich vorzüglich bewähren, ihre Anwendung ist aber eine etwas beschränkte.

### *B. Die Formoltitrierung.*

1. Das Prinzip der Methode. Obwohl die rationellen Formeln der Proteinstoffe noch ganz ungekannt sind, ist es doch außer allem Zweifel, daß ein sehr wichtiger, ja wahrscheinlich weitaus der wesentlichste Teil des Proteinstoffmoleküls aus Aminosäuren aufgebaut ist, indem diese durch Anhydridbildung zwischen Carboxyl- und Aminogruppen miteinander verknüpft sind („Peptidbindungen"). Ebenso unterliegt es auch keinem

---

[1]) K. Svenska Vetenskapsakad. Arkiv f. Kemi, Miner. och Geologi 2, Nr. 31, 1906; Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 213, 1907.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 294, 1907.

Zweifel, daß die während einer Proteolyse sich vollziehenden chemischen Prozesse hauptsächlich hydrolytischer Art sind und durch Auflösung solcher Peptidbindungen unter Bildung von Carboxyl- und Aminogruppen gekennzeichnet sind. Daß die Sache so liegt, ist für die Polypeptide sichergestellt worden durch die glänzenden Untersuchungen von E. Fischer und seinen Mitarbeitern, und für die etwas komplizierter gebauten Peptone und Albumosen erscheint eine solche Betrachtungsweise als die einzig natürliche. Die genuinen Proteinstoffe und ihre ersten Abbauprodukte enthalten dagegen außer dem aus Aminosäuren zusammengesetzten Kerne zugleich geringe Mengen anderer Atomgruppen, deren Verknüpfung mit den Aminosäuren und deren Verhalten den proteolytischen Enzymen gegenüber noch unbekannt sind. Hiervon abgesehen, wird also eine proteolytische Spaltung als eine Hydrolyse unter Bildung von Carboxyl- und Aminogruppen aufzufassen sein, und eine rationelle Methode zur quantitativen Bestimmung des Umfanges der Proteolyse muß darauf abzielen, die Menge der während der Proteolyse gebildeten Carboxyl- oder Aminogruppen zu messen.

Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich versucht, in Mischungen proteolytischer Spaltungsprodukte teils die Menge der Aminogruppen, teils nach passender Fixierung der Aminogruppen die Menge der Carboxylgruppen zu bestimmen, aber nur der letztere Weg hat sich als gangbar erwiesen. Es hat sich dabei gezeigt, daß es möglich ist, nach Zusatz von „Formol“ (Formaldehyd[1]), welches mit den Aminogruppen Methylenverbindungen gibt, die Menge der Carboxylgruppen vor und nach der Proteolyse, sowie in einem beliebigen Stadium derselben titrimetrisch zu bestimmen. Der Zuwachs der Carboxylgruppen repräsentiert die Ausdehnung der Proteolyse, und dieselbe kann demnach durch die entsprechende Anzahl Kubikzentimeter $^{n}/_{5}$-Bariumhydroxydlösung ausgedrückt werden. In der Voraussetzung, daß jede während der Proteolyse gebildete Carboxylgruppe einer Aminogruppe entspricht, läßt sich die Ausdehnung der Proteolyse

---

[1]) Unter den verschiedenen Namen: Formaldehyd, Formalin, Formol habe ich den letzten als den kürzesten gewählt.

auch in Milligrammen Stickstoff ausdrücken, und dieses ist für gewöhnlich ganz praktisch; die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_5$-Baryt mit 2,8 multipliziert, gibt einfach die Stickstoffmenge in Milligramm an.

2. Die Untersuchungen von Schiff. H. Schiff[1]) hat als der erste in einer Reihe schöner Arbeiten die durch Formol bewirkte Trennung der Amin- und der Säurefunktion der Aminosäuren und Proteinstoffe eingehend studiert. Dieser Verfasser hat nicht nur gezeigt, daß neutrale Lösungen dieser Stoffe durch Zusatz von neutralisiertem Formol sauer werden, sondern auch die Methylenverbindungen, welche durch Formoleinwirkung auf einige leicht zugängliche Aminosäuren entstehen, isoliert. Außerdem hat er gefunden, daß Gelatine nach Spaltung durch verdünnte Kalilauge und Neutralisation der Lösung, durch Formolzusatz stärker sauer wird als vor der Kalispaltung. Man ersieht hieraus, daß die Untersuchungen Schiffs die Momente enthalten, welche nötig sind, um eine solche Meßmethode auszuarbeiten, von welcher hier die Rede ist. Weder Schiff selbst noch andere Forscher haben aber dieses getan, und ich glaube die Ursache dafür in den Versuchsresultaten Schiffs suchen zu müssen. Aus denselben geht nämlich hervor, daß die Trennung der Amin- und der Säurefunktion nur unvollständig und in hohem Grade von der anwesenden Wasser- und Formolmenge abhängig ist. Als Beispiel führe ich einige von Schiff mit Alanin gewonnene Resultate an. Zu jedem Versuch wurden bei verschiedenen Wassermengen 0,089 g Alanin (1 mg-Molekül) und 0,2 ccm 40 prozentiger Formol angewendet. Bei Titrierung mit Phenolphthalein als Indicator und bei Anwendung der unten angeführten Wassermengen war der Verbrauch an Kalilauge wie folgt:

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5,7 ccm | $^n/_{10}$-Kalilauge, | wenn | 0,5 ccm | Wasser | anwesend | war, | | |
| 5,9 „ | „ | „ | „ | 1,0 „ | „ | „ | „ | |
| 4,9 „ | „ | „ | „ | 4,5 „ | „ | „ | „ | |
| 0,8 „ | $^n/_1$ | „ | „ | 1 „ | „ | „ | „ | |
| 0,75 „ | „ | „ | „ | 3 „ | „ | „ | „ | |
| 0,6 „ | „ | „ | „ | 6 „ | „ | „ | „ | |
| 0,5 „ | „ | „ | „ | 9 „ | „ | „ | „ | |

[1]) Annal. d. Chem. 310, 25, 1899; 319, 59 u. 287, 1901; 325, 348, 1902.

0,4 ccm $^n/_1$-Kalilauge, wenn 12 ccm Wasser anwesend war,
0,3 „ „ „ „ 18 „ „ „ „
0,2 „ „ „ „ 24 „ „ „ „

Bei einer passenden Konzentration der Aminosäure (ca. 10 ccm Wasser, einer $^n/_{10}$-Lösung entsprechend) beträgt der Verbrauch an Lauge also nur die Hälfte des berechneten, selbst wenn Normal-Kalilauge für die Titrierung angewendet wird. Diesem Fehler wird durch weiteren Zusatz von Formol nur zum Teil abgeholfen. Bei Anwendung der gleichen Alaninmenge und 6 ccm Wasser, aber wechselnder Mengen Formol, ergab sich ein Verbrauch von:

0,71 ccm $^n/_1$-Kalilauge bei Anwendung von 1 ccm Formol,
0,83 „ „ „ „ „ „ 1,5 „ „
0,87 „ „ „ „ „ „ 2 „ „

ein noch weiterer Zusatz von Formol blieb ohne Wirkung.

Auch bei etwas größeren Wassermengen konnte Schiff durch Vermehrung der Formolmenge ungefähr dieselbe Grenze des Kaliverbrauchs erreichen. 1 mg-Molekül Alanin in 18 ccm Wasser gelöst, verbrauchte:

0,47 ccm $^n/_1$-Kalilauge bei Anwendung von 1 ccm Formol,
0,65 „ „ „ „ „ „ 2 „ „
0,78 „ „ „ „ „ „ 3 „ „
0,88 „ „ „ „ „ „ 4 „ „
0,90 „ „ „ „ „ „ 5 „ „

ein noch weiterer Zusatz von Formol blieb ohne Wirkung.

In ganz ähnlicher Weise gestaltete sich die Titrierung der übrigen untersuchten Aminosäuren, wenn auch nicht immer so große Fehler wie beim Alanin vorhanden waren; man ersieht aber leicht, daß eine nur einigermaßen quantitative Titrierungsmethode nicht auf diesen Versuchen fußen kann.

3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration. Die durch die Einwirkung von Formol auf eine Aminosäure, z. B. Alanin, sich vollziehende chemische Umsetzung:

$$\begin{array}{llll} CH_3 & & CH_3 & \\ | & & | & \\ CH \cdot NH_2 & + HCOH = & CH \cdot N : CH_2 & + H_2O \\ | & & | & \\ COOH & + KOH \rightleftarrows & COOK & + H_2O, \end{array}$$

ist reziprok und führt zu einem Gleichgewichtszustand, welcher von den Mengen aller anwesenden Stoffe abhängig ist. Unter

diesen hat Schiff aber auf das vorhandene Kaliumhydroxyd oder, anders gesagt, auf den Hydroxylionengehalt der Lösung bei dem Umschlagspunkt des Indicators keine Rücksicht genommen. Schiff schreibt nämlich[1]): „In dem Endsystem ist also Wasser, Formaldehyd, Alanin und Kaliummethylenalanin vorhanden; es sind aber alle Grundwerte zur genauen Berechnung dieser Komponenten gegeben." Es ist leicht verständlich, daß eine Verminderung der Wassermenge oder eine Vermehrung der Formolmenge die oben angeführte Umsetzung von links nach rechts verschieben kann, ein Zusatz von Kaliumhydroxyd hat aber ganz dieselbe Wirkung.

Aus neueren Untersuchungen, besonders von Friedenthal und Salm, und wie es in einer folgenden Abhandlung näher beschrieben werden wird, geht es hervor, daß der Umschlag der verschiedenen Indicatoren bei weit verschiedenem Wasserstoff- oder — wenn man es so ausdrücken will — Hydroxylionengehalt der Flüssigkeit stattfindet. Es ist daher möglich, durch passende Wahl des Indicators den Umschlag bei eben der gewünschten Wasserstoffionenkonzentration zu bewerkstelligen. Aus dem oben Angeführten geht es hervor, daß eine Vermehrung des Hydroxylionengehalts der Lösung die öfters erwähnte Umsetzung nach der gewünschten Richtung von links nach rechts verschieben wird, man muß daher einen Indicator benutzen, dessen Umschlag bei einer größeren Hydroxyl- oder, anders gesagt, einer niedrigeren Wasserstoffionenkonzentration eintritt als die, bei welcher das Phenolphthalein einen rosa Farbenton annimmt. In Übereinstimmung hiermit hat Schiff auch gefunden, daß der Alkaliverbrauch bei der Formoltitrierung von Aminosäuren bei Verwendung von Lackmus (dessen Umschlag bei einer Wasserstoffionenkonzentration von ca. $10^{-7}$ erfolgt[2])) noch niedriger ist als bei Anwendung von Phenolphthalein als Indicator (dessen Umschlag bei ca. $10^{-8,5}$ erfolgt).

Das hier Gesagte läßt sich am besten durch ein Beispiel erläutern, das ich den im experimentellen Teil beschriebenen Versuchen entnehme. Wenn 20 ccm Wasser mit den in dem Folgenden (S. 64) angegebenen Mengen Formol und Phenol-

[1]) Annal. d. Chem. **319**, 73, 1901.

[2]) Der Faktor n (normal) ist hier wie überall im folgenden ausgelassen, $10^{-7}$ bedeutet also $n \times 10^{-7}$.

phthalein versetzt werden und danach $^{n}/_{5}$-Barytlösung zugesetzt wird, bis die Flüssigkeit einen schwachen, aber doch deutlich wahrnehmbaren rosa Farbenton (erstes Stadium) angenommen hat, wird diese Flüssigkeit eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-8,3}$—$10^{-8,4}$ besitzen[1]). Wenn weiter 1 Tropfen Bar. (hier und öfters in dem Folgenden als abgekürzte Bezeichnung für $^{n}/_{5}$-Barytlauge benutzt) zugesetzt wird, nimmt die Flüssigkeit eine deutliche rote Farbe an (zweites Stadium), die Wasserstoffionenkonzentration beträgt jetzt $10^{-8,7}$ bis $10^{-8,8}$. Werden noch 2 Tropfen Bar. zugesetzt, wird die Lösung stark rot (drittes Stadium), und die Wasserstoffionenkonzentration fällt bis zu $10^{-9,0}$ bis $10^{-9,1}$. Lösungen von starken Säuren verhalten sich in ganz ähnlicher Weise wie Wasser, während Lösungen von solchen schwachen Säuren wie die Methylenverbindungen der Aminosäuren gewöhnlich ein abweichendes Verhalten aufweisen. Wurden z. B. 20 ccm einer $^{n}/_{10}$-Lösung von Alanin (siehe experimentellen Teil S. 70) und dieselben Mengen von Formol und Phenolphthalein wie oben angewendet, war es sehr schwierig, bis zum ersten Stadium, den schwachen rosa Farbenton zu titrieren, weil der Umschlag hier sehr unscharf war; ein Zusatz von ein paar Tropfen Bar. oder Salzsäure hatte keinen wahrnehmbaren Einfluß auf die Farbenstärke. Wurde dagegen Barytlauge bis zur deutlichen roten Farbe zugesetzt (das zweite Stadium der Kontrollösung), bekam man einen sicheren und

[1]) Die in dieser Abhandlung angeführten Wasserstoffionenkonzentrationen sind alle durch eine im hiesigen Laboratorium ausgearbeitete colorimetrische Methode bestimmt worden, letztere wird in einer folgenden Abhandlung veröffentlicht werden. Des Verständnisses wegen sei hier nur bemerkt, daß das Produkt der Wasserstoffionenkonzentration und der Hydroxylionenkonzentration von wässerigen Lösungen bei 25° gewöhnlich gleich $10^{-14}$ gesetzt wird, so daß eine neutrale wässerige Lösung bei 25° sowohl eine Wasserstoff- wie auch eine Hydroxylionenkonzentration von $10^{-7}$ hat. Unsere Messungen sind bei 18° ausgeführt worden, und bei dieser Temperatur ist das eben erwähnte Produkt ein wenig niedriger; gewöhnlich benutzt man den Wert $0{,}64 \times 10^{-14} = 10^{-14,2}$. Für eine irgendwelche gegebene Wasserstoffionenkonzentration ($H^{\cdot}$) kann daher die entsprechende Hydroxylionenkonzentration ($OH'$) durch die Gleichung

$$(OH') = \frac{10^{-14,2}}{(H^{\cdot})}$$

gefunden werden.

deutlichen Umschlag durch 0,1 ccm Titerflüssigkeit, aber der gesamte Verbrauch an $^{n}/_{5}$-Barytlauge betrug nur 9,35 ccm, während der berechnete für 20 ccm $^{n}/_{10}$-Alaninlösung 10 ccm ist. Es zeigte sich denn auch, daß die Alaninlösung nicht wie die Kontrollösung durch weiteren Zusatz von 2 Tropfen Bar. die stark rote Farbe des dritten Stadiums erreichte. Dies rührt offenbar davon her, daß die Seite 50 besprochene Umsetzung noch nicht ganz vollständig von links nach rechts verlaufen ist, und erst der weitere Zusatz von Barytlauge vollendet die Umsetzung. Um die stark rote Farbe der Kontrollösung zu erreichen, erforderte die Alaninlösung noch 0,55 ccm Bar., und man erkennt leicht, daß hiernach der gesamte Verbrauch an Barytlauge dem berechneten fast gleichkommt.

Ganz ähnlich wie Alanin verhalten sich auch die anderen Aminosäuren. Bei Titrierung unter den später angeführten Verhältnissen (siehe S. 65) bis zum schwachen rosa Farbenton war der Umschlag gewöhnlich sehr schlecht. Bei Titrierung bis zu einer deutlichen roten Farbe, d. h. die Farbe der Kontrollösung im zweiten Stadium, war der Umschlag einigermaßen scharf, der Verbrauch an Barytlauge aber gewöhnlich ein wenig niedriger als der berechnete. Wurde schließlich bis zu stark roter Farbe, d. h. die Farbe der Kontrolllösung im dritten Stadium, titriert, blieb der Verbrauch an Barytlauge sehr wenig hinter dem berechneten zurück.

Es ist unter diesen Verhältnissen ein sehr naheliegender Gedanke, einen anderen Indicator als Phenolphthalein zu benutzen. Ich habe denn auch mehrere solche probiert, deren Umschlagspunkte bei noch niedrigeren Wasserstoffionenkonzentrationen liegen als derjenige des Phenolphthaleins. Nur ein einziger, das Thymolphthalein — in saurer Lösung farblos, in alkalischer blau —, hat sich aber als praktisch brauchbar erwiesen. Thymolphthalein ist indessen schwerer löslich als Phenolphthalein in sehr verdünntem Alkohol, und es ist daher notwendig, vor der Titrierung etwas Alkohol zuzusetzen, um die vollständige oder teilweise Ausscheidung des Indicators zu verhindern (siehe S. 66). Übrigens wird die Titrierung nach demselben Prinzip wie die Phenolphthaleintitrierung ausgeführt. Es wird eine Kontroll-

lösung von 20 ccm Wasser und einer bestimmten Menge einer Mischung von Formol, Alkohol und Thymolphthalein dargestellt. Hierzu wird $^{n}/_{5}$-Barytlauge gesetzt, bis die Flüssigkeit bläulich opaleszierend wird (Wasserstoffionenkonz.: ca. $10^{-9,4}$). Ein weiterer Zusatz von 2 Tropfen Bar. gibt eine deutliche blaue Farbe (Wasserstoffionenkonz.: $10^{-9,5}$—$10^{-9,6}$), während noch 2 Tropfen Bar. eine schöne und starke blaue Farbe hervorrufen (Wasserstoffionenkonz.: ca. $10^{-9,7}$). Bis zu dieser letzten Farbenstärke werden die zu untersuchenden Lösungen titriert; werden bei einer solchen Titrierung z. B. 10,2 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge verbraucht, während der Verbrauch bei der Titrierung der Kontrolllösung 0,3 ccm Barytlauge gewesen ist, beträgt die zur Neutralisation der Methylenaminosäureverbindung nötige Menge Barytlauge natürlicherweise 9,9 ccm. Es ist selbstverständlich, daß dieselbe Berechnungsweise bei den Phenolphthaleintitrierungen anzuwenden ist, und ebenso daß man dieselbe Kontrollösung für eine ganze Reihe von Versuchen anwenden kann. Schließlich sei nur bemerkt, daß es praktisch ist, durch eine vorläufige Neutralisation der Mischung von Formol und Phenolphthalein oder von Formol, Alkohol und Thymolphthalein den Verbrauch der Kontrolllösung an Barytlauge zu einem ganz minimalen herabzudrücken.

Wie es zu erwarten wäre, haben die Thymolphthaleintitrierungen durchschnittlich noch bessere Resultate als die Phenolphthaleintitrierungen geliefert, und in den meisten Fällen sind daher die Thymolphthaleintitrierungen zu empfehlen; von einigen Unannehmlichkeiten der Methode wird unten die Rede sein (siehe S. 59). Indem ich bezüglich der Einzelheiten auf den experimentellen Teil verweise, werde ich hier nur noch anführen, daß die Titrierungen zahlreicher, sehr verschiedenartiger Aminosäuren, unter welche so gut wie alle die wichtigsten Zersetzungsprodukte der Proteine zu zählen sind, die folgenden Resultate gegeben haben:

20 ccm einer $^{n}/_{10}$-Lösung einer Aminosäure, 10 ccm Bar. entsprechend, haben bei Titrierung

a) mit Phenolphthalein bis zu einer deutlichen roten Farbe (zweites Stadium) 7,8—10,0 ccm Bar. verbraucht,

durchschnittlich 9,56 ccm Bar.,

b) mit Phenolphthalein bis zu stark roter Farbe (drittes Stadium) 8,9—10,1 ccm Bar. verbraucht,

durchschnittlich 9,75 ccm Bar.

und c) mit Thymolphthalein 9,6—10,1 ccm Bar. verbraucht, durchschnittlich 9,86 ccm Bar.

Bei der Phenolphthaleintitrierung bis zu stark roter Farbe und besonders bei der Thymolphthaleintitrierung erreicht man also ungefähr dieselbe Genauigkeit wie bei vielen der gewöhnlich verwendeten quantitativen Methoden[1]).

Die hier erwähnten Versuche sind alle mit 20 ccm der vorliegenden Aminosäurelösung und mit einer Kontrollösung von 20 ccm Wasser ausgeführt worden. Der Umschlag ist, wie es aus den Angaben bei den einzelnen Versuchen zu ersehen ist, immer bei 0,1—0,2 ccm Bar. deutlich zu sehen. Ungefähr dieselbe Genauigkeit kann indessen durch Titrierung von 10 ccm ja gewöhnlich auch von 5 ccm der vorliegenden Lösung erreicht werden. Man muß dann eine entsprechend kleinere Kontrollösung und entsprechend weniger Formol und Indicator verwenden, und für die Titrierung müssen $^{n}/_{5}$-Lösungen von Baryt und Salzsäure benutzt werden. Der Umschlag wird dann entsprechend schärfer, also bei 2 bzw. 1 Tropfen Bar. deutlich sein. Nur eins darf man nicht tun, nämlich eine verdünntere, z. B. eine $^{n}/_{10}$-Barytlauge anwenden; der Verbrauch einer solchen würde freilich ein größerer werden, die Genauigkeit aber absolut eine geringere (siehe übrigens den folgenden Abschnitt über den Einfluß des Flüssigkeitsvolumens).

---

[1]) Zur Beurteilung der Genauigkeit der gewöhnlich für Proteinanalysen verwendeten Fällungs- bzw. Aussalzungsmethoden vergleicht man im allgemeinen die Resultate mehrerer unter denselben Verhältnissen ausgeführten Fällungen bzw. Aussalzungen derselben Lösung. Dies ist natürlicherweise bis zum gewissen Grade berechtigt, denn eine Methode, die bei gleichen Verhältnissen nicht immer einigermaßen gleiche Resultate liefert, ist unbrauchbar, die Beurteilung ist aber nicht erschöpfend. Handelt es sich zum Beispiel darum, eine Proteinlösung vor und nach einer Proteolyse zu vergleichen, ist es gewöhnlich nicht leicht, die Fällung beidesmal unter denselben Verhältnissen (z. B. bei derselben Acidität oder demselben Überschuß des Fällungsmittels) ausführen zu können. Es läßt sich aber leicht zeigen, daß selbst ziemlich kleine Veränderungen der äußeren Verhältnisse das Resultat der Analyse beeinflussen können. Ich glaube daher, daß man im allgemeinen bei Fällungsanalysen nicht mit größerer Genauigkeit als der oben für die Formoltitrierungen angegebenen rechnen darf. Dazu kommt überdies die Unsicherheit bei der Deutung der Analyse, von welcher im Anfang dieser Abhandlung (siehe S. 46) die Rede war.

**4. Einfluß der Flüssigkeitsmenge.** Wie es aus der S. 50 angeführten Gleichung zu ersehen ist, wird bei Zusatz von Formol die Umsetzung von links nach rechts verlaufen, während eine Vermehrung der Wassermenge die entgegengesetzte Wirkung ausüben wird. Bei den Titrierungen wurde daher auch ein großer Überschuß von Formol verwendet, und die Wassermenge wurde innerhalb passender Grenzen gehalten. Die Aminosäurelösungen sind immer in bezug auf Carboxylgruppen $^{n}/_{10}$ gewesen; eine Proteinlösung, die durch vollständige Hydrolyse einen entsprechenden Gehalt an Carboxylgruppen erhalten wird, hat gewöhnlich in 10 ccm einen Stickstoffgehalt von 14 mg oder ein wenig mehr. Lösungen von größerer Verdünnung werden bei proteolytischen Versuchen nur selten angewendet. Die Titerflüssigkeiten sind immer $^{n}/_{5}$ gewesen, weil einerseits normale Flüssigkeiten, wie solche von Schiff verwendet wurden, einen zu kleinen Verbrauch an Titerflüssigkeit verursachen, und weil andererseits $^{n}/_{10}$-Flüssigkeiten einen so großen Verbrauch und dadurch ein so großes Gesamtvolumen bewirken, daß merkbare Fehler hierdurch hervorgerufen werden können; $^{n}/_{5}$-Flüssigkeiten bilden, wie die Versuche erwiesen haben, die richtige Mitte.

Da das Flüssigkeitsvolumen am Ende der Titrierung nicht ohne Bedeutung ist, ist es notwendig, der Kontrollösung eine solche passende Menge Barytlauge zuzusetzen, daß man bei Zurücktitrierung mit Salzsäure ungefähr dasselbe Volumen bekommt wie bei Titrierung der zu untersuchenden Lösungen (siehe übrigens S. 65). Um festzustellen, welche Bedeutung größere Verschiedenheiten des Endvolumens haben können, habe ich gewöhnlich nicht nur 20 ccm der Aminosäurelösungen, den 20 ccm Wasser der Kontrollösung entsprechend, sondern auch 10 ccm und 30 ccm der Aminosäurelösungen titriert, indem ich auch für diese Titrierungen die gleichen Mengen Formol und Indicator, sowie auch dieselbe Kontrollösung wie bei der Titrierung von 20 ccm Aminosäurelösung verwendet habe. Es hat sich dabei gezeigt, wie es aus dem experimentellen Teil zu ersehen ist, daß während die Phenolphthaleintitrierung bis zum zweiten und dritten Stadium und ebenfalls die Thymolphthaleintitrierung von 20 ccm Aminosäurelösung einen durchschnittlichen Verbrauch an Barytlauge von beziehungsweise

95,6%, 97,5% und 98,6% des berechneten ergeben haben, sind die entsprechenden Zahlen für

10 ccm Aminosäurelösung

97,1%, 98,8% und 100,3% des berechneten und für

30 ccm Aminosäurelösung nur

93,7%, 96,5% und 97,5% des berechneten.

Es erhellt hieraus, daß der Einfluß des Endvolumens wohl nicht groß, aber doch erkennbar ist, und es wird sich daher empfehlen, das Volumen der Kontrollösung und das der zur Untersuchung vorliegenden Lösung von einigermaßen gleicher Größe zu halten.

Noch eine weitere Frage muß in diesem Zusammenhang erörtert werden. Es wird bis zu einem ziemlich großen Gehalt an Hydroxylionen (ca. $10^{-4}$) titriert, es könnte daher gefragt werden, ob nicht eine Volumenverschiedenheit in der Beziehung Bedeutung haben könnte, daß ein größeres Flüssigkeitsvolumen einen Mehrverbrauch an Barytlauge erfordern müßte, um diesen großen Hydroxylionengehalt erreichen zu können. Vom theoretischen Standpunkte aus muß die Frage selbstverständlich bejahend beantwortet werden, eine einfache Rechnung zeigt aber, daß dieselbe ohne praktische Bedeutung ist. 1 Tropfen $^n/_5$-Barytlauge ist gleich 0,1 ccm einer $^n/_{10}$-Lösung (mit einem Hydroxylionengehalt von ca. $10^{-1}$) oder 1 ccm einer $^n/_{100}$-Lösung (Hydroxylionengehalt: ca. $10^{-2}$), oder wieder 10 ccm einer $^n/_{1000}$-Lösung (Hydroxylionengehalt: ca. $10^{-3}$), oder schließlich 100 ccm einer $^n/_{10000}$-Lösung (Hydroxylionengehalt: ca. $10^{-4}$). Solange das Gesamtvolumen nicht 100 ccm übersteigt, ist also 1 Tropfen $^n/_5$-Barytlauge hinreichend, um der ganzen Flüssigkeitsmenge die erwähnte Hydroxylionenkonzentration zu geben, selbstverständlich vorausgesetzt, daß die Barytlauge keine andere Anwendung findet. Bei der Titrierung bis zu diesem großen Hydroxylionengehalt läuft man daher gar keine Gefahr; nur muß man natürlich dafür Sorge tragen, daß der Hydroxylionengehalt — oder mit anderen Worten die Farbenstärke — in der Analyse der gleiche ist wie in der Kontrollösung. Die gewonnenen Resultate zeigen, daß die öfters erwähnte Umsetzung (siehe S. 50) selbst bei dieser Hydroxylionenkonzentration noch nicht vollständig zu Ende gegangen ist, und es dürfte sich daher empfehlen, eine möglichst hydroxylreiche, d. h. eine möglichst stark ge-

färbte Kontrollösung anzuwenden und daher in Zweifelsfällen der Kontrollösung lieber ein paar Tropfen Bar. zu viel als zu wenig zuzusetzen. Selbstverständlich darf man aber nicht eine so stark gefärbte Kontrolllösung benutzen, daß ein weiterer Zusatz von ein paar Tropfen Bar. keine Farbenänderung hervorrufen könnte.

5. Über die Anwendung von $^n/_5$-Barytlauge oder $^n/_5$-Natronlauge. Bei den hier erwähnten Titrierungen habe ich gewöhnlich Barytlauge und nicht Natronlauge angewendet. Dies hat seinen Grund darin, daß viele, und zwar besonders die natürlich vorkommenden Proteinlösungen Carbonate oder Phosphate oder beides enthalten, weshalb es notwendig war, eine Methode, durch welche auch diese Stoffe der Messung zugänglich würden, zu benutzen. Wie es zu erwarten wäre (siehe experimentellen Teil S. 79), läßt sich die Kohlensäure scharf als eine zweibasische Säure, und die Phosphorsäure sich ebenso scharf als eine dreibasische Säure durch Barytlauge titrieren, wenn nur ein passender Überschuß von Bariumchlorid vorhanden ist. Die in den Proteinlösungen vorkommenden Mengen von Phosphaten sind indes meistens so gering, daß das bei der Titrierung gebildete Bariumsalz hinreichend ist, und ein weiterer Zusatz von Bariumchlorid an dem Resultat nichts ändert. Carbonat- und phosphatfreie Lösungen lassen sich dagegen ebenso glatt und scharf durch Natronlauge wie durch Barytlauge titrieren, und es gibt Fälle, wo die Natronlauge vorzuziehen ist.

Dies gilt bei der Titrierung von Phenylalanin und phenylalaninreichen Mischungen. Die Methylenverbindung des Phenylalanins bildet nämlich ein schwer lösliches Bariumsalz, mit welchem der Indicator, sowohl das Phenolphthalein als auch das Thymolphthalein, niedergeschlagen wird, wodurch die Titrierung erschwert wird. Phenylalanin läßt sich dagegen glatt durch Natronlauge titrieren (siehe S. 82), und dieses Verfahren wird sich daher z. B. bei Spaltungsversuchen von phenylalaninhaltigen Polypeptiden und ähnlichen phenylalaninreichen Verbindungen empfehlen.

Es geschieht auch nicht selten, daß die Formolverbindungen der genuinen Proteinstoffe und ihrer

ersten Spaltungsprodukte schwerlösliche Bariumsalze bilden, die besonders bei der Thymolphthaleintitrierung, wo etwas Alkohol anwesend ist, ausfallen und die Titrierung erschweren; auch in solchen Fällen ist Natronlauge zu empfehlen. Sobald aber die Proteolyse einige Zeit gedauert hat, gibt die Titrierung mit Barytlauge nur einen geringfügigen Niederschlag, und in dem Falle ziehe ich die Barytlauge vor.

6. Über einige Übelstände der Methode. Unter den Spaltprodukten der Proteine sind zwei zu erwähnen, nämlich $\alpha$-Pyrrolidincarbonsäure (Prolin) und Tyrosin, deren Titrierung auf diese Weise nur unsichere Resultate liefert. Wenn daher diese Verbindungen in reichlicher Menge anwesend sind, wie es z. B. bei der Spaltung prolin- oder tyrosinhaltiger Polypeptide der Fall sein wird, ist die Methode unbrauchbar. Unter den Spaltungsprodukten der gewöhnlichen Proteine kommen diese Verbindungen aber gewöhnlich nur in verhältnismäßig geringen Mengen vor, und eine einfache Rechnung zeigt, daß die Anwesenheit einer geringen Menge von Prolin so gut wie gar nicht und von Tyrosin nur in geringem Maße die Genauigkeit der Methode beeinträchtigen kann.

Aus dem experimentellen Teil (siehe S. 82) geht es hervor, daß das Prolin weniger Baryt als berechnet verbraucht, indem der Verbrauch bei der Phenolphthaleintitrierung bis zu stark roter Farbe nur 80% und bei der Thymolphthaleintitrierung 92% des berechneten gewesen ist; es ist aber leicht ersichtlich, daß der davon herrührende Fehler ohne Bedeutung sein wird, wenn das Prolin nur einen kleinen Bruchteil der gesamten Aminosäuremenge ausmacht.

Bei der Formoltitrierung des Tyrosins geht der Fehler zu der anderen Seite, indem die Phenolgruppe des Tyrosins, wie es zu erwarten wäre, sauren Charakter hat, und natürlich in je ausgeprägterer Weise, je niedriger die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung ist; der Fehler ist demgemäß größer bei der Thymol- als bei der Phenolphthaleintitrierung. Bei der Titrierung mit Natronlauge und Phenolphthalein bis zu deutlicher roter Farbe betrug der Verbrauch 105,5%, bis zu stark roter Farbe dagegen 109% und bei der Thymolphthaleintitrierung 137,5% des berechneten. Noch schlimmer liegt die Sache, wenn Baryt-

lauge für die Titrierung verwendet wird, indem Tyrosin ganz wie Phenylalanin mit Formol und Barytlauge eine schwerlösliche Bariumverbindung bildet, die wahrscheinlich zwei Äquivalente Barium enthält, weshalb der Verbrauch an Barytlauge weit über den berechneten hinausgeht. Es erhellt aus dem eben Gesagten, daß die Methode bei Anwesenheit größerer Mengen Tyrosin unbrauchbar ist; und wenn kleinere Mengen vorhanden sind, darf die Titrierung nur mit Natronlauge und Phenolphthalein vorgenommen werden. Auch bei der Formoltitrierung der Mischung von Aminosäuren, welche bei einer gewöhnlichen Proteinspaltung entsteht, kann das anwesende Tyrosin einen Fehler verursachen. Derselbe ist aber gewöhnlich nur klein und geht überdies in entgegengesetzter Richtung von der der übrigen Fehlerquellen der Methode. Außerdem muß man sich erinnern, daß dieser Fehler wahrscheinlich von ungefähr derselben Bedeutung vor und nach der Proteolyse ist, indem es wohl nicht anzunehmen ist, daß freie Phenolgruppen während der Proteolyse gebildet werden. Die Hauptschwierigkeit ist daher die, daß bei Anwesenheit von Tyrosin der Umschlag weniger scharf ist.

Noch muß erwähnt werden, daß Guanidinsalze auch nach Zusatz von Formol sich als vollständig neutrale Verbindungen verhalten (siehe experimentellen Teil S. 83). Das Arginin, welches eine Guanidino-, eine Amino- und eine Carboxylgruppe enthält, verhält sich hiermit übereinstimmend nach Zusatz von Formol als ein neutraler Stoff, dessen Chlorid z. B. (mit einem Äquivalent Salzsäure) scharf und glatt wie eine einbasische Säure formoltitriert werden kann. Ob dieses Verhalten der Guanidinogruppe einen Fehler beider Methode in sich birgt, läßt sich zurzeit noch nicht sagen. Wenn in dem Proteinmolekül das Arginin mit den übrigen Molekülteilchen nur durch seine Amino- oder Carboxylgruppe verknüpft ist, während die Guanidinogruppe auch im Proteinmolekül frei ist, wird die Passivität der Guanidinogruppe dem Formol gegenüber keinen Fehler verursachen. Findet sich aber im Proteinmolekül eine Guanidinogruppe mit einer Carboxylgruppe anhydridartig verbunden, wird die Lösung einer solchen Bindung sich der Messung bei der Formoltitrierung entziehen.

Die natürlichen Proteinlösungen haben oft eine mehr oder weniger stark gelbe oder bräunlichgelbe Farbe, und ist es daher

zweckmäßig, wenn auch gewöhnlich nicht notwendig, die Kontrollösung ähnlich zu färben. Dies wird einfach erreicht durch Zusatz einiger Tropfen von schwachen Lösungen solcher passenden Farbstoffe, die bei den hier in Frage kommenden Wasserstoffionenkonzentrationen keine Farbenänderungen erleiden. Als für diesen Zweck empfehlenswerte Farbstoffe können genannt werden: Tropäolin 0, Tropäolin 00 und Bismarckbraun, alle in Lösungen von 0,2 g in 1 l Wasser. Wenn die Proteinlösung einen grauen oder noch dunkleren Schein hat, kann ein weiterer Zusatz von ein paar Tropfen einer ganz schwachen Methylviolettlösung (0,02 g in 1 l Wasser) zur Kontrollösung von guter Wirkung sein. Das Färben der Kontrollösung ist aber, wie schon gesagt, besonders bei der Phenolphthaleintitrierung im allgemeinen nicht notwendig, es macht aber die Vergleichung der Farbenintensität leichter und daher das Analysenresultat zuverlässiger, denn die geringfügigen Mengen zugesetzter Farbstoffe sind übrigens ganz ohne Bedeutung bei der Titrierung.

### *C. Beispiele von der Anwendung der Formoltitrierung.*

1. Spaltung von Polypeptiden. Bei Proteolysen von Polypeptiden wird die Formoltitrierung gewiß gute Dienste leisten können, und zwar sowohl bei Studien über die Reaktionsgleichungen bei proteolytischen Spaltungen (vgl. z. B. die S. 47 zitierte Arbeit von Euler), als auch bei Untersuchungen über das verschiedenartige Verhalten der Polypeptide den verschiedenen proteolytischen Enzymen gegenüber, ein Gebiet, welches schon von E. Fischer, E. Abderhalden und ihren Mitarbeitern eingehend bearbeitet worden ist.

Von reinen Polypeptiden hat mir nur eins, das Glycylglycin, zur Verfügung gestanden. Bei der Untersuchung zweier in hiesigem Laboratorium von S. Palitzsch dargestellten Proben von Glycylglycin hat es sich ergeben (siehe S. 83), daß dasselbe, wie es zu erwarten war, glatt und scharf wie eine einbasische Säure formoltitriert werden kann, während das Glycinanhydrid sich wie ein völlig neutraler Stoff verhält. Es darf wohl sicher angenommen werden, daß andere Polypeptide sich analog verhalten werden.

2. Spaltung von Polypeptidmischungen. Zur Untersuchung über den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren

Teil einer Mischung proteolytischer Spaltungsprodukte verfügt man zurzeit nur über sehr mangelhafte Methoden. Gewöhnlich nimmt man wohl an, daß die Proteine durch nacheinander folgende Spaltungen mit Pepsin, Trypsin und Erepsin vollständig oder doch beinahe vollständig[1]) hydrolysiert werden können, die Richtigkeit dieser Annahme ist aber keineswegs erwiesen. Jedenfalls haben die von V. Henriques und C. Hansen[2]), von E. Abderhalden und P. Rona[3]) und von E. Abderhalden und B. Oppler[4]) ausgeführten Stoffwechselversuche gezeigt, daß es nicht möglich ist, durch Fütterung mit Säurespaltungsprodukten der Proteine als einzige Stickstoffnahrung ein Tier im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten, während dies wohl zu erreichen ist, wenn als einzige Stickstoffquelle die durch eine möglichst vollständige enzymatische Proteinspaltung entstehenden Produkte verwendet werden. Überdies ist es Henriques und Hansen[5]) gelungen, durch Fütterung einer weißen Ratte mit „Monaminosäuren" als alleiniger Stickstoffnahrung nicht nur den Stickstoffbedarf zu decken, sondern auch einen nachweisbaren Stickstoffansatz hervorzurufen. Unter „Monaminosäuren" ist hier zu verstehen der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbare Anteil der durch eine zweimonatliche Trypsin- und Erepsinspaltung von Ochsenpankreas dargestellten Verdauungsprodukte. Es ist außer allem Zweifel, daß diese „Monaminosäuren" Stoffe enthalten, die den Säurespaltungsprodukten der Proteine fehlen; wahrscheinlich handelt es sich um Polypeptide, die durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden können[6]).

Nach Aufforderung von Henriques und Hansen hat A. C. Andersen im hiesigen Laboratorium eine Restprobe der oben erwähnten „Monaminosäuren" untersucht. Ein Teil der

---

[1]) Siehe z. B. O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. **49**, 64, 1906; **51**, 415, 1907.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 417, 1904; **48**, 383, 1906; **49**, 113, 1906.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 528, 1904; **44**, 198, 1905; **47**, 397, 1906.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 226, 1907.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 438, 1904.

[6]) Daß solche durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Polypeptide bei der Pepsinverdauung in reichlicher Menge entstehen, ist schon vor mehreren Jahren von M. Pfaundler erwiesen worden (Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 90, 1900).

„Monaminosäuren" wurde mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt und die Schwefelsäure durch Baryt niedergeschlagen, worauf die jetzt vollständig hydrolysierte Aminosäurelösung formoltitriert wurde. Durch Vergleich zwischen dem so erhaltenen Resultat und dem der Formoltitrierung der mit Schwefelsäure nicht erwärmten „Monaminosäuren" konnte berechnet werden (siehe experimentellen Teil S. 89), daß beinahe 20% des Gesamtstickstoffes in den „Monaminosäuren" noch „peptidgebunden" waren; zwischen 20 und 40% des Gesamtstickstoffes sind also in Form von Polypeptiden vorhanden[1]).

Es kann nicht bezweifelt werden, daß die Formoltitrierung bei der Untersuchung ähnlicher Polypeptidmischungen wie die oben erwähnte gute Dienste leisten wird.

3. Spaltung von Proteinstoffen. Auch bei der Messung von Proteinstoffspaltungen hat die Formoltitrierung seit einiger Zeit im hiesigen Laboratorium Anwendung gefunden, und es ist

---

[1]) In diesem Zusammenhang sei es mir erlaubt, die Aufmerksamkeit auf einen Punkt der Kritik zu lenken, die Abderhalden und Oppler gegen die hier erwähnte Arbeit von Henriques und Hansen gerichtet haben. Abderhalden und Oppler betonen stark und, wie mir scheint, mit Recht, daß es bei derartigen Stoffwechselversuchen, von denen hier die Rede ist, absolut notwendig ist, genau festzustellen, wie weit die für die Fütterung verwendete Mischung von Proteinverdauungsprodukten abgebaut ist. Abderhalden und Oppler haben indessen in ihrem letzt veröffentlichten Versuche (Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 226, 1907) nur den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Teil ihrer Fütterungsmischung einer solchen Prüfung unterworfen, gerade diesen Teil benutzten Henriques und Hansen aber bei dem hier erwähnten Versuche gar nicht. Henriques und Hansen verwenden nur den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Anteil, allerdings ohne nähere Untersuchung, weil geeignete Methoden fehlen, aber ganz dasselbe tun Abderhalden und Oppler, so daß es mir scheint, daß ihre Kritik in diesem Punkte ebensogut gegen ihre eigene Arbeit gerichtet werden könnte.

Nachdem die hier vorliegende Abhandlung zum Druck in „Compt. rend. du Laboratoire de Carlsberg" abgegeben war (Juni 1907), haben E. Abderhalden und P. Rona einen neuen Fütterungsversuch beschrieben (Zeitschr. f. physiol. Chemie **52**, 507, 1907), bei welchem ein möglichst weit enzymatisch abgebautes Verdauungsprodukt des Fleisches als Stickstoffnahrung diente. In diesem Versuche haben Abderhalden und Rona auch den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Teil einer Prüfung unterworfen, deren Genauigkeit aber gar nicht beurteilt werden kann, da Zahlenangaben gänzlich fehlen.

ganz lehrreich, die durch die Formoltitrierung erhaltenen Resultate mit denjenigen zu vergleichen, welche man durch eine gewöhnliche Methode, z. B. eine Gerbsäurefällung, erhält.

Hiernach werden bei der Pepsinverdauung offenbar nur verhältnismäßig wenige Peptidbindungen gelöst, das Proteinmolekül wird aber dadurch in Bruchstücke geteilt, unter welchen viele durch Gerbsäure nicht gefällt werden können. Das Verhältnis zwischen der Menge Stickstoff, die bei der Pepsinverdauung in einer bestimmten Zeit „der Gerbsäurefällung entzogen wird", und der durch die Formoltitrierung gemessenen Stickstoffmenge, welche den in derselben Zeit gelösten Peptidbindungen entspricht, wird daher immer weit größer als 1 sein. Bei der Trypsin- und besonders bei der Erepsinverdauung stellt sich die Sache anders, indem in diesen Fällen weit mehrere Peptidbindungen als bei der Pepsinspaltung gelöst werden. Das eben erwähnte Verhältnis zwischen der durch Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoffmenge und der durch die Formoltitrierung gemessenen Stickstoffmenge ist wohl während der ersten Stadien der Proteolyse größer als 1, es ändert sich aber fortwährend und kann in den letzten Stadien der Proteolyse kleiner als 1 werden. Dies ist leicht verständlich, wenn man erwägt, daß eine weitere Spaltung der Verbindungen, die durch Gerbsäure nicht fällbar sind, die Gerbsäurefällung gar nicht beeinflussen wird. Übrigens wird auf den experimentellen Teil verwiesen (S. 89).

## *D. Experimenteller Teil.*

1. Die Ausführung der Titrierungen. Bei der Phenolphthaleintitrierung werden benutzt:

a) eine Lösung von 0,5 g Phenolphthalein in 50 ccm Alkohol + 50 ccm Wasser, und

b) eine Formolmischung, die für jede Versuchsreihe frisch dargestellt werden muß. 50 ccm käuflichem Formol (30—40 prozentigem) werden 1 ccm Phenolphthaleinlösung und danach $^{n}/_{5}$-Barytlauge bis zum ganz schwachen rosa Farbenton zugesetzt.

Als Kontrollösung wurden in allen hier erwähnten Versuchen 20 ccm ausgekochtes, destilliertes Wasser benutzt. Es

werden erst 10 ccm Formolmischung und danach ca. 5 ccm Bar. zugesetzt, wonach mit $^{n}/_{5}$-Salzsäure zurücktitriert wird[1]).

Bei dieser Rücktitrierung wird die Salzsäure unter Schütteln zugetröpfelt, bis die Flüssigkeit nur einen schwachen rosa Farbenton hat (erstes Stadium, siehe S. 52), darauf wird 1 Tropfen Bar. zugesetzt, wodurch die Kontrollösung eine deutliche rote Farbe annimmt (zweites Stadium).

Die zur Untersuchung vorliegenden Lösungen werden bis zu dieser letzten Farbenstärke titriert, indem 20 ccm der Analyse 10 ccm Formolmischung zugesetzt werden, und gleich darauf $^{n}/_{5}$-Barytlauge bis Rotfärbung, und überdies noch ein paar Kubikzentimeter der Lauge zugelassen, um etwa anwesende Carbonate und Phosphate vollständig zu fällen. Dann wird mit $^{n}/_{5}$-Salzsäure zurücktitriert, bis die Farbe der Lösung schwächer als die der Kontrollösung erscheint, und schließlich wird Barytlauge zugetröpfelt, bis die Farbe der Kontrollösung wieder erreicht worden ist.

Wenn alle vorliegenden Lösungen auf diese Weise titriert worden sind (Phenolphthalein, zweites Stadium), werden der Kontrollösung weiter 2 Tropfen Bar. zugesetzt, wodurch dieselbe eine stark rote Farbe annimmt. Die Titrierungen der Analysen werden dann vollendet, indem jeder Lösung Barytlauge zugetröpfelt wird, bis die stark rote Farbe der Kontrollösung erreicht worden ist (Phenolphthalein, drittes Stadium).

---

[1]) Es ist schon im vorhergehenden (siehe S. 56) darauf aufmerksam gemacht worden, daß eine solche passende Menge Barytlauge der Kontrolllösung zugesetzt werden muß, daß man nach der Rücktitrierung mit Salzsäure ungefähr denselben Gesamtverbrauch an Titerflüssigkeiten wie bei den Analysen gehabt hat, nur dann haben die Analysen und die Kontrolllösung einigermaßen das gleiche Volumen. Werden für die Analysen 20 ccm von $_{n}/_{10}$-Lösungen (10 ccm $_{n}/_{5}$-Barytlauge entsprechend) verwendet, so ist, wie leicht ersichtlich, der oben erwähnte Barytzusatz zu der Kontrolllösung ein passender; ein paar Kubikzentimeter mehr oder weniger sind aber ohne merkbaren Einfluß. Sollte es dagegen der Fall sein, daß die zu untersuchende Lösung stark sauer ist, so daß der große Verbrauch an Barytlauge das Volumen sehr vergrößert, dann wird es sich empfehlen, den Versuch mit einer geringeren Menge der Lösung zu wiederholen, indem auch für diesen Versuch die gewöhnliche Kontrollösung und die gewöhnliche Formolmenge verwendet werden; denn es ist ja nicht das Anfangs-, sondern das Endvolumen, das für die Formolmenge maßgebend sein soll.

Bei der **Thymolphthaleintitrierung** werden benutzt:

a) eine Lösung von 0,5 g Thymolphthalein (G. **Grübler** & Co., Leipzig) in 1 l 93prozentigem Alkohol, und

b) eine **Formolmischung**, die für jede Versuchsreihe frisch dargestellt werden muß. 50 ccm Handelsformol werden 25 ccm absolutem Alkohol und 5 ccm Thymolphthaleinlösung und schließlich $^{n}/_{5}$-Barytlauge bis zum schwachen grünlichen oder bläulichen Farbenton zugesetzt.

Als **Kontrollösung** werden auch hier 20 ccm ausgekochtes Wasser verwendet. Es werden zuerst 15 ccm Formolmischung und ca. 5 ccm Bar. zugesetzt, danach wird mit $^{n}/_{5}$-Salzsäure zurücktitriert, bis die Lösung **bläulich opalescierend** erscheint. Dann werden 2 Tropfen Bar., wodurch die Lösung **eine deutliche blaue Farbe** annehmen muß, und schließlich noch 2 Tropfen Bar., wodurch **eine schöne und starke blaue Farbe** erreicht wird, zugelassen.

Bis zu dieser letzten Farbenstärke werden die Analysen titriert, indem 20 ccm der Analyse, 15 ccm Formolmischung und gleich darauf ein kleiner Überschuß an Barytlauge (siehe bei der Phenolphthaleintitrierung) zugesetzt werden. Nach Rücktitrierung mit Salzsäure, bis die Farbe schwächer als die der Kontrollösung erscheint, wird schließlich Barytlauge zugetröpfelt, bis die Farbe der Kontrollösung wieder erreicht worden ist.

Zu weiterer Beleuchtung der Frage mögen hier ein paar Beispiele angeführt werden, die zwischen den später tabellarisch zusammengestellten Versuchsergebnissen gewählt sind.

**Beispiel 1.** Zur Untersuchung liegt eine $^{n}/_{10}$-Serinlösung vor (siehe S. 74):

Phenolphthaleintitrierung (deutliche rote Farbe).

Die Kontrollösung (20 ccm Wasser) verbrauchte { 5,20 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.; 5,10 „ $^{n}/_{5}$-Salzsäure

K: 0,10 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.

20 ccm Serinlösung verbrauchten . . { 13,05 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.; 3,05 „ $^{n}/_{5}$-Salzsäure

10,00 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.

: K: 0,10 „ „ „

Verbrauch: 9,90 ccm $^{n}/_{5}$ - Bar.

= 99% des berechneten.

Phenolphthaleintitrierung (stark rote Farbe).

Kontrollösung + 2 Tropfen $^n/_5$-Bar., also

K = 0,20 ccm $^n/_5$-Bar.

Die Serinlösung verbrauchte weitere 0,1 „ Bar., also

im ganzen . . . . . . . . . . . . 10,10 „ $^n/_5$-Bar.

÷ K: 0,20 „ „ „

Verbrauch: 9,90 ccm $^n/_5$ - Bar.

= 99% des berechneten.

**Beispiel 2.** Zur Untersuchung liegt eine $^n/_{10}$-Leucinlösung vor (siehe S. 70); dieselbe ist durch Lösen von 13 mg-Molekeln Leucin in 65 ccm $^n/_5$-Barytlauge + Wasser bis zu 130 ccm dargestellt; jeden 10 ccm der Lösung sind also im voraus 5 ccm $^n/_5$-Bar. zugesetzt worden.

Phenolphthaleintitrierung (deutliche rote Farbe).

Kontrollösung (20 ccm Wasser) } verbrauchte { 5,15 ccm $^n/_5$-Bar.
5,15 „ $^n/_5$-Salzsäure

K: 0,00.

20 ccm Leucinlösung verbrauchten . { 5,35 ccm $^n/_5$-Bar.
5,85 „ $^n/_5$-Salzsäure

0,50 ccm $^n/_5$-Salzsäure

im voraus zugesetzt . . . . . . . . . 10,00 „ $^n/_5$-Bar.

Verbrauch: 9,50 ccm $^n/_5$ - Bar.

= 95% des berechneten.

Phenolphthaleintitrierung (stark rote Farbe).

Kontrollösung + 2 Tropfen $^n/_5$-Bar., also

K = 0,10 ccm $^n/_5$-Bar.

Die Leucinlösung verbrauchte weitere 0,3 ccm $^n/_5$-Bar., also

im ganzen . . . . . . . . . . . . . . 9,80 „ „ „

÷ K: 0,10 „ „ „

Verbrauch: 9,70 ccm $^n/_5$ - Bar.

= 97% des berechneten.

Thymolphthaleintitrierung.

Kontrollösung (20 ccm Wasser) } verbrauchte { 5,25 ccm $^n/_5$-Bar.
5,35 „ $^n/_5$-Salzsäure

K: 0,10 ccm $^n/_5$-Salzsäure.

| | |
|---|---|
| 20 ccm Leucinlösung verbrauchten . | {5,20 ccm $^n/_5$-Bar. |
| | {5,40 „ $^n/_5$-Salzsäure |
| | 0,20 ccm $^n/_5$-Salzsäure |
| im voraus zugesetzt . . . . . . . . . | 10,00 „ $^n/_5$-Bar. |
| | 9,80 ccm $^n/_5$-Bar. |
| + K: | 0,10 „ $^n/_5$-Salzsäure |
| Verbrauch: | 9,90 ccm $^n/_5$-Bar. |
| = 99% des | berechneten. |

In den folgenden Tabellen sind alle diese Einzelheiten bei den Versuchen nicht aufgenommen; nur die oben gesperrt gedruckten Zahlen für den Verbrauch an Barytlauge sind angeführt; es ist aber aus den zwei eben beschriebenen Beispielen leicht zu ersehen, auf welche Weise wir zu diesen Zahlen gelangt sind.

Noch ein paar Bemerkungen, einige Einzelheiten bei diesen Titrierungen betreffend, müssen hinzugefügt werden.

Es sind oben mehrmals Farbenänderungen erwähnt worden, die durch Zusatz von 2 Tropfen Barytlauge hervorgerufen wurden; selbstverständlich ist die Größe der Tropfen nicht ohne Bedeutung. Ich habe immer eine solche Bürettenspitze benutzt, daß 1 ccm 16 Tropfen entsprach; von kleineren Tropfen muß eine entsprechend größere Anzahl verwendet werden. Die Hauptregel ist ja, wie schon erwähnt (siehe S. 58), die, daß man bei Titrierung der Kontrollösung lieber einen Tropfen zu viel als zu wenig an Barytlauge verwenden muß.

Es ist oben (siehe S. 53) erwähnt worden, daß es bei der Thymolphthaleintitrierung notwendig ist, etwas Alkohol zuzusetzen, um die Ausscheidung des Indicators zu verhindern. Selbst wenn die oben vorgeschriebene Alkoholmenge verwendet wird, fällt der Indicator noch aus, aber sehr langsam, und je langsamer, je kleiner das Endvolumen ist. So hat es sich gezeigt, daß während die mit Phenolphthalein titrierten Lösungen beim Stehenlassen bis zum nächsten Tage nur wenig heller geworden waren, hatten alle mit Thymolphthalein titrierten Proben große Einbußen an Farbenstärke gelitten. Die Kontrollösung und die Analysen mit 10 bzw. 20 ccm Aminosäurelösung waren am nächsten Tage gewöhnlich noch deutlich blau und von einigermaßen der gleichen Farbenstärke; die Analysen mit 30 ccm Aminosäurelösung waren dagegen oft vollständig farblos geworden. Es er-

hellt hieraus, daß es, besonders bei der Thymolphthaleintitrierung, nicht günstig ist, wenn zwischen der Titrierung der Kontrollösung und den der Analysen mehrere Stunden vergehen, weil die Vergleichung der Farbenstärke dann unsicher wird.

Es wird sich empfehlen, alle Titrierungen in konischen Kochflaschen vorzunehmen, die gestöpselt werden können, um den Zutritt der Kohlensäure der Luft zu verhindern. Aus demselben Grunde ist es das einzig richtige, seine Vorräte an Titerflüssigkeiten in Woulffschen Flaschen aufzubewahren, die mit der üblichen Apparatur versehen sind, welche eine Füllung der Bürette ohne Zutritt der kohlensäurehaltigen Luft gestattet.

2. Untersuchung einer Reihe von Aminosäuren und ähnlichen Verbindungen, die sich normal bei der Formoltitrierung verhalten. Indem ich in betreff der Ausführung der Titrierungen auf den vorhergehenden Abschnitt verweise, lasse ich ohne nähere Beschreibung die Resultate, in tabellarischer Form geordnet, folgen.

Tabelle I. Glycin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der verwendete Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein käufliches Präparat (C. A. F. Kahlbaum) verwendet. Der Gehalt an Stickstoff: 18,68%, berechnet 18,70%.<br>13 Milligramm-Molekeln (0,9760 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 130 ccm verdünt ($^n/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K[1]) |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,70 | 98 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,75 | 98,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |

[1]) Hierdurch wird bezeichnet, daß der Umschlag bei der Titrierung der Analyse und der Kontrollösung gleich scharf war.

Tabelle II. Alanin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein käufliches Präparat (Merck) nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser verwendet. Der Gehalt an Stickst.: 15,73 %, berechnet 15,76 %. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,80 | 96 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,35 | 93,5 | do. |
| | | 30 | 13,75 | 91,7 | Umschlag mit 0,3 ccm |
| 13 Milligramm - Molekeln (1,1583 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,35 | 95,7 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,55 | 97 | do. |

Tabelle III. Leucin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein synthetisch dargestelltes Präparat (C. A. F. Kahlbaum) verwendet. Der Gehalt an Stickstoff: 10,67 %, berechnet 10,71 %. 13 Milligramm-Molekeln (1,7048 g) wurden in 65 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge gelöst, und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 5 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,50 | 95 | Umschlag mit 0,15 ccm |
| | | 30 | 13,80 | 92 | Umschlag mit 0,3 ccm |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,70 | 97 | do. |
| | | 30 | 14,45 | 96,3 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,10 | 102 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,60 | 97,3 | do. |

## Tabelle IV. Asparaginsäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verbrauchte Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von H. Jessen-Hansen aus Lupinenkeimlingen dargestelltes Präparat verwendet. Der Gehalt an Stickstoff war 10,51 %, berechnet 10,55 %. $^{13}/_2$ Milligramm-Molekeln (0,8651 g) wurden in 65 ccm $^n/_5$-Barytlauge gelöst und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 5 ccm $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,65 | 96,5 | do. |
| | | 30 | 14,25 | 95 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,75 | 97,5 | do. |
| | | 30 | 14,60 | 97,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |

## Tabelle V. Glutaminsäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von H. G Koefoed dargestelltes Präparat verwendet. Nach E. Fischer (Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 153, 1901) wurde aus Casein das salzsaure Salz der Glutaminsäure dargestellt, und hieraus die Glutaminsäure durch die berechnete Menge Natronlauge gefällt und aus Wasser umkrystallisiert. Der Gehalt an Stickstoff: 9,53 %, berechnet 9,54 %. $^{13}/_2$ Milligramm-Molekeln (0,9562 g) wurden in 65 ccm $^n/_5$-Barytlauge gelöst und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus 10 ccm 5 ccm $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,95 | 99,5 | do. |
| | | 30 | 14,90 | 99,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,10 | 102 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 10,00 | 100 | do. |
| | | 30 | 14,90 | 99,3 | do. |

### Tabelle VI. α-Aminoadipinsäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von S. P. L. Sörensen dargestelltes und analysiertes Präparat (Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 20, 1902) verwendet.<br>$^{13}/_{2}$ Milligramm-Molekeln (1,0473 g) wurden in 65 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge gelöst und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 5 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,65 | 96,5 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 30 | 14,40 | 96 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,75 | 97,5 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |

### Tabelle VII. Ornithin (α-ϑ-Diaminovaleriansäure).

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Das verwendete Ornithinchlorid war aus synthetischer Ornithursäure (S. P. L. Sörensen, Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 32, 1902) durch Zersetzung mit Salzsäure, Ausschütteln der Benzoesäure mit Äther, Eindampfen der Lösung und Umkrystallisation aus Alkohol dargestellt.<br>Es wurde gefunden:<br>13,63% und 13,69% N<br>und: 35,19% „ 35,24% HCl<br>berechn.: 13,69% N u. 35,55% HCl<br>2,6525 g dieses Salzes, 0,9342 g Chlorwasserstoff und 1,7183 g Ornithin (13 Milligramm-Molekeln) enthaltend, wurden in der der Salzsäure entsprechenden Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge (128,11 ccm) gelöst. Das Volumen war demnach 130,1 ccm; diese Lösung wurde als $^{n}/_{10}$-Ornithinlösung verwendet. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,70 | 98 | do. |

## Tabelle VIII. Lysin ($\alpha$-$\varepsilon$-Diaminocapronsäure).

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verbrauchte Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von H. Jessen-Hansen aus Edestin dargestelltes Lysinchlorid verwendet. Das Lysinpikrat wurde durch zweimalige Krystallisation aus Wasser gereinigt, danach ins Chlorid überführt und dieses aus wässeriger Lösung durch Alkohol und ein wenig Äther gefällt. Es wurde gefunden: 12,62% N und 32,98% HCl, während das berechnete 12,82% N und 33,28% HCl ist. 2,8357 g dieses Salzes, 0,9352 g Chlorwasserstoff und 1,9005 g Lysin (13 Milligramm-Molekeln) enthaltend, wurden in der der Salzsäure entsprechenden Menge $^n/_5$-Barytlauge (128,25 ccm) gelöst. Das Volumen war danach 130,35 ccm; diese Lösung wurde als $^n/_{10}$-Lysinlösung verwendet. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,75 | 95 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | 20 | 8,55 | 85,5 | do. |
| | | 30 | 11,70 | 78 | Umschlag mit 0,5 ccm |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,25 | 92,5 | do. |
| | | 30 | 12,95 | 86,3 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,65 | 96,5 | Umschlag mit 0,15 ccm |
| | | 30 | 13,95 | 93 | Umschlag mit 0,2 ccm |

## Tabelle IX. $\alpha$-$\vartheta$-Diaminoadipinsäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$ Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$ Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von A. C. Andersen synthetisch dargestelltes Präparat (siehe S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen: Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 200, 1905) verwendet. $^{13}/_2$ Milligramm-Molekeln (1,1452 g) wurden in 78 ccm $^n/_5$-Barytlauge gelöst, und die Lösung mit Wasser bis 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 6 ccm $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden) | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,75 | 98,3 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,75 | 98,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,75 | 98,3 | do. |

## Tabelle X. $\alpha$-$\varepsilon$-Diaminopimelinsäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von A. C. Andersen synthetisch dargestelltes Präparat (siehe S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen: Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 205, 1905) verwendet. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,75 | 95 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,25 | 92,5 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | 30 | 13,25 | 88,3 | Umschlag mit 0,5 ccm |
| $^{13}/_2$ Milligramm-Molekeln (1,2362 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,85 | 97 | Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | 20 | 9,60 | 96 | do. |
| | | 30 | 14,20 | 94,7 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,45 | 96,3 | do. |

## Tabelle XI. Serin ($\alpha$-Amino-$\beta$-oxypropionsäure).

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von A. C. Andersen nach H. Leuchs und W. Geiger (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 2644, 1906) dargestelltes Präparat verwendet. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,90 | 99,3 | do. |
| Der Gehalt an Stickstoff: 13,29%, berechnet 13,36%. 13 Milligramm-Molekeln (1,3663 g) wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,90 | 99,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,85 | 99 | do. |

**Tabelle XII.** $\alpha$-Amino-$\gamma$-oxybuttersäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von A. C. Andersen nach einer noch nicht veröffentlichten Methode dargestelltes Präparat verwendet. | **Phenolphthaleïn.** | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag wie K |
| | Deutliche | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | rote Farbe | 30 | 14,60 | 97,3 | do. |
| Der Gehalt an Stickstoff: 11,71 %, berechnet 11,79 %. | **Phenolphthaleïn.** | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag wie K |
| 13 Milligramm-Molekeln (1,5484 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis | Stark rote | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung). | Farbe | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |
| | **Thymolphthaleïn.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,85 | 98,5 | do. |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | do. |

**Tabelle XIII.** $\alpha$-Amino-$\vartheta$-oxyvaleriansäure.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von S. P. L. Sörensen dargestelltes und analysiertes Präparat verwendet (Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 137, 1905). | **Phenolphthaleïn.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | Deutliche | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | rote Farbe. | 30 | 14,60 | 97,3 | do. |
| 13 Milligramm-Molekeln (1,7307 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthaleïn.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | Stark | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | rote Farbe. | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |
| | **Thymolphthaleïn.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,95 | 99,5 | do. |
| | | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |

## Tabelle XIV. Harnstoff.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein reines käufliches Präparat (C. A. F. Kahlbaum) verwendet.<br>$^{13}/_3$ Milligramm-Molekeln (0,3907 g) wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 0,10 | — | Umschlag wie K |
| | | 20 | 0,00 | — | do. |
| | | 30 | 0,05 | — | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 0,10 | — | Umschlag wie K |
| | | 20 | 0,00 | — | do. |
| | | 30 | 0,05 | — | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 0,10 | — | Umschlag wie K |
| | | 20 | 0,00 | — | do. |
| | | 30 | 0,00 | — | do. |

## Tabelle XV. Asparagin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein käufliches Präparat verwendet, das durch Lösen in heißem Wasser, Neutralisation der Lösung, Auskrystallisation des Asparagins und zweimaliges Umlösen aus Wasser von Asparaginsäure gereinigt worden war.<br>Der Gehalt an Stickstoff: 18,63 %, auf Asparagin + $H_2O$ berechnet: 18,70 %.<br>13 Milligramm-Molekeln (1,9521 g) wurden in 65 ccm $^n/_5$-Barytlauge gelöst, und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 5 ccm $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,75 | 98,3 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | | 30 | 14,85 | 99 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,05 | 101 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,95 | 99,5 | do. |
| | | 30 | 14,85 | 99 | do. |

Nach Stehenlassen bis zum nächsten Tage erschienen die Analysen viel schwächer gefärbt als die entsprechenden Kontrollösungen und verbrauchten 2—5 Tropfen $^n/_5$-Barytlauge, um die Farbenstärke der Kontrolllösung wieder zu erlangen. Bei weiterem Stehenlassen trat dieselbe Erscheinung wieder auf, offenbar von der Spaltung der Amidogruppe herrührend.

## Tabelle XVI. Glutamin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von H. Jessen-Hansen aus Rüben dargestelltes, nur in geringer Menge vorhandenes Präparat verwendet. Dasselbe war nicht ganz rein, da der Stickstoffgehalt nur 18,83 $^{0}/_{0}$ betrug, während der berechnete 19,21 $^{0}/_{0}$ ist. 5 Milligramm-Molekeln (0,7308 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 50 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 20 | 10,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 20 | 10,10 | 101 | Umschlag wie K |
| | **Thymolphthalein.** | 20 | 10,10 | 101 | Umschlag wie K. Ein schwacher Niederschlag wurde bei der Titrierung gebildet. |

Daß die Titrierungen ein wenig zu hoch ausfallen, rührt wahrscheinlich von einem kleinen Glutaminsäuregehalt her. In guter Übereinstimmung hiermit steht der niedrige Stickstoffgehalt, sowie auch die deutlich saure Reaktion der Substanz.

## Tabelle XVII. Histidin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von H. Jessen-Hansen aus Edestin dargestelltes Histidinchlorid verwendet. Das Histidin wurde durch fünfmalige Fällung als Silberverbindung gereinigt, darauf wurde das freie Histidin aus Wasser krystallisiert und ins Chlorid überführt. Das Chlorid wurde aus $^{n}/_{5}$ Salzsäure krystallisiert und schließlich sorgfältig mit Äther-Alkohol gewaschen. Es wurde gefunden: 18,31 % N und 31,99 % HCl, berechnet: 18,46 % N und 31,97 % HCl. 13 Milligramm-Molekeln (2,9654 g) wurden in 127,4 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge und einigen Tropfen Wasser gelöst, wonach das Volumen 130 ccm betrug. Da die anwesende Salzsäure zur Neutralisation 130 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge erforderte, lag also eine $^{n}/_{10}$-Histidinlösung vor, die in 10 ccm 0,2 ccm $^{n}/_{5}$-Salzsäure enthielt, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden. | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 3,80 | 76 | Der Umschlag war sehr schlecht |
| | | 20 | 7,80 | 78 | do. |
| | | 30 | 11,20 | 74,7 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 4,55 | 91 | Umschlag mit 0,15 ccm |
| | | 20 | 8,90 | 89 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | 30 | 13,25 | 88,3 | Umschlag mit 0,3 ccm |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 4,85 | 97 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,60 | 96 | do. |
| | | 30 | 14,15 | 94,3 | Umschlag mit 0,15 ccm |

**Tabelle XVIII. Ammoniumchlorid.**

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in ccm | in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein reines im Vakuum über Schwefelsäure getrocknetes Präparat verwendet. | **Phenolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| 13 Milligramm-Molekeln (0,6958 g) wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | Deutliche | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | rote Farbe | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |
| | **Phenolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | Stark rote | 20 | 9,90 | 99 | do. |
| | Farbe | 30 | 14,80 | 98,7 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,80 | 98 | do. |
| | | 30 | 14,70 | 98 | do. |

Der Übersicht wegen habe ich in der folgenden Tabelle (Nr. XIX) die Resultate zusammengestellt, die durch Titrierung von 20 ccm der Aminosäurelösungen — den 20 ccm Wasser der Kontrollösungen entsprechend — gewonnen sind. Es erhellt daraus, daß während die Phenolphthaleintitrierungen bis zu deutlich roter Farbe in einigen Fällen noch einen bedeutenden Fehler geben, erreicht man bei den Phenolphthaleintitrierungen bis zu stark roter Farbe und besonders bei den Thymolphthaleintitrierungen eine ziemlich genaue quantitative Messung der anwesenden Carboxylgruppen.

3. Untersuchung von Verbindungen, deren Titrierung eigenartige Verhältnisse darbietet. Indem ich auf die obige ausführliche Besprechung verweise (S. 58—60), werde ich in diesem Abschnitte die Resultate der Titrierungen von Natriumcarbonat, sekundärem Natriumphosphat, Phenylalanin, $\alpha$-Prolin, Tyrosin nebst einigen Guanidinoverbindungen (Guanidinnitrat, Kreatin, Kreatinin und Arginin) anführen.

Natriumcarbonat. Es wurde ein reines, nach Lunge entwässertes Natriumcarbonat, und zwar in $^n/_{10}$-Lösung, ver-

Tabelle XIX.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge in $^0/_0$ der berechneten | | |
|---|---|---|---|---|
| Tabellen Nr. | Name | phthalein. Deutliche rote Farbe | Phenol-phthalein. Stark rote Farbe | Thymol-phthalein. |
| I | Glycin | 98,5 | 98,5 | 98,5 |
| II | Alanin | 93,5 | 98 | 98,5 |
| III | Leucin | 95 | 97 | 99 |
| IV | Asparaginsäure | 96,5 | 97,5 | 98 |
| V | Glutaminsäure | 99 | 99,5 | 100 |
| VI | $\alpha$-Aminoadipinsäure | 96,5 | 97,5 | 98,5 |
| VII | Ornithin | 98 | 98 | 98,5 |
| VIII | Lysin | 85,5 | 92,5 | 96,5 |
| IX | $\alpha$-$\vartheta$-Diaminoadipinsäure | 99 | 99 | 99 |
| X | $\alpha$-$\varepsilon$-Diaminopimelinsäure | 92,5 | 96 | 98 |
| XI | Serin | 99 | 99 | 99 |
| XII | $\alpha$-Amino-$\gamma$-oxybuttersäure | 98 | 98 | 98,5 |
| XIII | $\alpha$-Amino-$\vartheta$-oxyvaleriansäure | 98 | 99 | 99,5 |
| XIV | Harnstoff | Neutraler Stoff | | |
| XV | Asparagin | 99 | 99 | 99,5 |
| XVI | Glutamin | 100 | 101 | 101 |
| XVII | Histidin | 78 | 89 | 96 |
| XVIII | Ammoniumchlorid | 99 | 99 | 98 |
| | Mittel | **95,6** | **97,5** | **98,6** |

wendet. Bei der Formoltitrierung von 10 ccm, 20 ccm bzw. 30 ccm dieser Lösung auf die gewöhnliche Weise mit $^n/_5$-Barytlauge verhielt sich das Natriumcarbonat wie ein völlig neutraler Stoff, sowohl wenn Phenolphthalein als auch wenn Thymolphthalein als Indicator benutzt wurde. Selbstverständlich muß ein wenig mehr als die zur völligen Fällung der Kohlensäure als Bariumcarbonat nötige Menge $^n/_5$-Barytlauge vor der Rücktitrierung mit Salzsäure zugesetzt werden. Der Verbrauch an $^n/_5$-Barytlauge hat in allen angestellten Versuchen zwischen 0,00 ccm und 0,05 ccm variiert. Ein nachfolgender Zusatz von 1 g Bariumchlorid gab bei den Thymolphthaleintitrierungen keine wahrnehmbare Farbenänderung, bei den Phenolphthaleintitrierungen wurde aber die Farbe, besonders wenn das Flüssigkeitsvolumen groß war, deutlich heller; ein

weiterer Zusatz von nur 1 Tropfen $^n/_5$-Barytlauge rief aber die normale Farbenstärke wieder hervor.

Sekundäres Natriumphosphat. Im Gegensatz zum Natriumcarbonat läßt sich Natriumphosphat nur dann scharf titrieren, wenn einigermaßen reichliches Bariumsalz in der Lösung vorhanden ist, weshalb ein Zusatz von Bariumchlorid in diesem Falle notwendig ist. Wird nämlich nur ein wenig mehr als die zur völligen Fällung der Phosphorsäure als normales Bariumphosphat nötige Menge $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt, und danach mit $^n/_5$-Salzsäure bis zu schwach roter Farbe (Phenolphthalein als Indicator) zurücktitriert, so verbleibt die Flüssigkeit nur einen Augenblick schwach rot, sie wird bald eine immer stärker rote Farbe annehmen, indem das normale Bariumphosphat in sekundäres Salz und Bariumhydroxyd hydrolysiert wird. Ein Zusatz von Bariumchlorid drückt indessen diese Hydrolyse vollständig zurück, und die Titrierung läßt sich dann auf die gewöhnliche Weise ausführen.

Die in der folgenden Tabelle XX zusammengestellten Titrierungen einer $^n/_{10}$-Lösung von sekundärem Natriumphosphat, welches sich bei der Titrierung wie eine einbasische Säure verhalten muß, wurden alle unter Zusatz von 1 g Bariumchlorid ausgeführt. Nach Vollendung der Titrierung wurde jeder Analyse

Tabelle XX. Sekundäres Natriumphosphat.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge | | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | in ccm | in % der berechneten | |
| Es wurde ein reines Salz von der Zusammenzetzung $Na_2HPO_4, 2H_2O$ verwendet, deren Darstellung und Analyse in einer folgenden Abhandlung erwähnt werden soll. 13 Milligramm-Molekeln (2,3158 g) wurden in Wasser gelöst und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | Umschlag mit 0,1—0,2 ccm |
| | | 20 | 10,00 | 100 | |
| | | 30 | 14,60 | 97,3 | |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 5,00 | 100 | |
| | | 20 | 10,05 | 100,5 | |
| | | 30 | 14,80 | 98,7 | |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,10 | 102 | |
| | | 20 | 10,25 | 102,5 | |
| | | 30 | 15,40 | 102,7 | |

noch 1 g Bariumchlorid zugesetzt, aber nur in einem einzigen Falle (Phenolphthaleintitrierung — 30 ccm Phosphatlösung) wurde dadurch die Farbenstärke geschwächt, und ein weiterer Verbrauch von 0,1 ccm Bar. war notwendig, um die normale Farbenstärke wieder hervorzubringen.

Phenylalanin. Während das Phenylalanin in Barytlauge klar löslich ist, bildet seine Methylenverbindung dagegen ein schwerlösliches Bariumsalz, welches die Formoltitrierung des Phenylalanins durch Barytlauge stört, weil die Indicatorfarbstoffe mitgefällt werden. Es ist jedoch möglich, ziemlich genaue Resultate zu erhalten, wenn man nach Zusatz der Barytlauge, aber vor der Rücktitration mit Salzsäure, ein wenig mehr der Indicatorlösung zusetzt. Selbstverständlich muß allen vorliegenden Analysen, sowie auch der Kontrollösung die gleiche Extramenge der Indicatorlösung zugesetzt werden, obgleich die Kontrollösung keinen Verlust an Indicatorfarbstoff erlitten hat. Hierdurch wird allerdings ein Fehler eingeführt; es ergibt sich aber aus Tabelle XXI,

Tabelle XXI. Phenylalanin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Die verwendete Titerflüssigkeit | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$ Baryt- oder Natronlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$ Baryt- oder Natronlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein von S. P. L. Sörensen (Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 18, 1902) dargestelltes und analysiertes Präparat verwendet. 20 Milligramm-Molekeln (3,3026 g) wurden in heißem Wasser gelöst, und die gekühlte Lösung bis zu 200 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | $^n/_5$-Barytlauge | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,90 | 98 | Niederschlag. Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | | 20 | 9,80 | 98 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 30 | 14,45 | 96,3 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,90 | 98 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 20 | 9,80 | 98 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 30 | 14,45 | 96,3 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | **Thymolphthalein.** | 10 | 5,10 | 102 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 20 | 10,15 | 101,5 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 30 | 15,10 | 100,7 | Niederschlag. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | $^n/_5$-Natronlauge | **Phenolphthalein** Deutliche rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Klar. Umschlag wie K |
| | | | 20 | 9,75 | 97,5 | Klar. Umschlag wie K |
| | | **Phenolphthalein** Stark rote Farbe. | 10 | 4,95 | 99 | Klar. Umschlag wie K |
| | | | 20 | 9,95 | 99,5 | Klar. Umschlag wie K |
| | | **Thymolphthalein** | 20 | 10,00 | 100 | Klar. Umschlag wie K |

die eine Reihe auf diese Weise ausgeführter Versuche enthält, daß der Fehler nur geringfügig ist. Es ist jedoch, wie schon oben erwähnt (S. 58), bei der Titrierung von Phenylalanin oder phenylalaninreichen Mischungen zu empfehlen, statt Barytlauge Natronlauge zu benutzen; in diesem Falle bleiben die Flüssigkeiten ganz klar, und die Titrierungen verlaufen vollständig normal (siehe die letzten Versuche in Tabelle XXI).

$\alpha$ - Prolin. Obgleich das $\alpha$-Prolin keine Amino-, sondern nur eine Iminogruppe enthält, bildet es doch mit Formol eine säureähnliche Verbindung. Die entsprechenden Salze sind aber so leicht hydrolysierbar, daß eine Phenolphthaleintitrierung bis zu deutlicher roter Farbe viel zu niedrige und zudem sehr unsichere Resultate gibt, und selbst die Titrierung bis zu stark roter Farbe gibt einen zu niedrigen Barytverbrauch. Erst bei einer so großen Hydroxylionenkonzentration wie diejenige, bis zu welcher bei der Thymolphthaleintitrierung titriert wird, ist die Hydrolyse so gut wie vollständig beseitigt worden.

Tabelle XXII. $\alpha$ - Prolin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indikator | Die verwendete Menge der $^n/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^n/_5$-Barytlauge | | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | in ccm | in % der berechneten | |
| Es wurde ein von A. C. Andersen synthetisch dargestelltes, 1 Mol. Krystallwasser enthaltendes Präparat verwendet (siehe Compt. rend. du Lab. de Carlsberg **6**, 156, 1905). 13 Milligramm-Molekeln (1,7307 g) wurden in Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^n/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe. | 10 | 3,05 | 61 | Sehr schlechter Umschlag |
| | | 20 | 5,75 | 57,5 | do. |
| | | 30 | 7,30 | 48,7 | do. |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe. | 10 | 4,25 | 85 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | 20 | 8,00 | 80 | Schlechter Umschlag |
| | | 30 | 10,85 | 72,3 | do. |
| | **Thymolphthalein.** | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,20 | 92 | Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | 30 | 13,15 | 87,7 | Umschlag mit 0,3 ccm |

Tyrosin. Es ist schon oben erwähnt worden (siehe S. 59), daß das Tyrosin bei der Formoltitrierung mehr als die berechnete Menge Base verbraucht, und zwar um so mehr, je größer die Hydroxylionenkonzentration der Lösung ist. Es ist ebenfalls erwähnt worden, daß die Methylenverbindung des Tyrosins ein schwerlösliches Bariumsalz bildet, weshalb es sich empfiehlt, bei der Titrierung tyrosinreicher Mischungen Barytlauge durch Natronlauge zu ersetzen. Im übrigen verweise ich auf die nachfolgende Tabelle XXIII.

Einige Verbindungen, welche eine Guanidinogruppe enthalten; Arginin. Die Passivität der Guanidinogruppe dem Formol gegenüber ist schon oben erwähnt worden (siehe S. 60), es soll hier nur angeführt werden, daß reines, gegen Lackmus neutrales Guanidinnitrat bei einer Reihe Formoltitrierungen sowohl mit Phenolphthalein wie auch mit Thymolphthalein als Indicator sich als ein völlig neutraler Stoff verhielt (Verbrauch an $^{n}/_{5}$-Barytlauge: 0,00—0,05 ccm). Der Vollständigkeit halber muß jedoch darauf aufmerksam gemacht werden, daß alle guanidinhaltigen Lösungen beim Stehenlassen bis zum nächsten Tage vollständig entfärbt worden waren und 0,5—1,00 ccm Bar. verbrauchten, um die Farbenstärke der Kontrollösung wieder zu erlangen; diese Erscheinung konnte beim weiteren Stehenlassen wiederholt werden. Die Ursache ist natürlich darin zu suchen, daß das Guanidin in der ziemlich stark alkalischen Flüssigkeit zersetzt wird; die Zersetzung geht aber nicht so weit, daß Kohlensäure gebildet wird, denn ein Niederschlag von Bariumcarbonat war nicht vorhanden.

Kreatin und Kreatinin verhielten sich hiermit übereinstimmend wie ganz neutrale Stoffe, und Argininchlorid läßt sich, wie es aus Tabelle XXIV hervorgeht, glatt wie eine einbasische Säure titrieren. Die drei letzterwähnten Verbindungen erwiesen sich beständiger als das Guanidin in alkalischer Lösung, denn beim Stehenlassen ihrer titrierten Lösungen bis zum nächsten Tage tritt keine Entfärbung ein.

4. Untersuchung von Glycylglycin und Glycinanhydrid. Wie es oben erörtert worden (siehe S. 61), und wie es aus der Tabelle XXV zu ersehen ist, läßt sich das Glycylglycin glatt wie eine einbasische Säure titrieren.

### Tabelle XXIII.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Die verwendete Titerflüssigkeit | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Baryt- oder Natronlauge in ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Baryt- oder Natronlauge in % der berechneten | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Es wurde ein aus Casein dargestelltes Präparat verwendet. Der Reinigung wegen war das Tyrosin in Salzsäure gelöst, die Lösung durch Knochenkohle entfärbt und darauf mit Natronlauge neutralisiert worden. Schließlich wurde das ausgeschiedene Tyrosin aus Wasser krystallisiert. Das feste Tyrosin war beinahe absolut farblos, löste sich aber in Natronlauge mit gelblicher Farbe. Der Gehalt an Stickstoff: 7,72 % berechnet: 7,75 % 13 Milligramm-Molekeln (2,3547 g) wurden in 117 ccm $^{n}/_{5}$-Natron- bzw. Barytlauge gelöst, und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 9 ccm $^{n}/_{5}$-Natron- bzw. Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | $^{n}/_{5}$-Natronlauge | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 5,25 | 105 | Klar. Umschlag mit 0,1 ccm. |
| | | | 20 | 10,55 | 105,5 | Klar. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 30 | 16,05 | 107 | do. |
| | | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 5,35 | 107 | Klar. Umschlag mit 0,1 ccm |
| | | | 20 | 10,90 | 109 | Klar. Umschlag mit 0,2 ccm |
| | | | 30 | 16,85 | 112,3 | do. |
| | | **Thymolphthalein.** | 10 | 6,50 | 130 | Klar. Umschlag mit 0,5 ccm |
| | | | 20 | 13,75 | 137,5 | do. |
| | | | 30 | 21,75 | 145 | do. |
| | $^{n}/_{5}$-Barytlauge | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 5,75 | 115 | Ganz schwacher Niederschlag. Umschlag mit 0,3 ccm |
| | | | 20 | 11,50 | 115 | Während der Titrierung bildete sich ein Niederschlag. Umschlag mit 0,3 ccm |
| | | | 30 | 18,15 | 121 | Während der Titrierung bildete sich ein reichlicher Niederschlag. Umschlag mit 1 ccm |
| | | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 7,40 | 148 | Ganz schwacher Niederschlag. Sehr schlechter Umschlag. |
| | | | 20 | 19,00 | 190 | Niederschlag. Sehr schlechter Umschlag |
| | | | 30 | 30,05 | 200,3 | Reichlicher Niederschlag. Sehr schlechter Umschlag |
| | | **Thymolphthalein.** | 10 | 8,15 | 163 | Reichlicher Niederschlag. Sehr schlechter Umschlag |
| | | | 20 | 16,20 | 162 | |
| | | | 30 | 25,25 | 168,3 | |

## Tabelle XXIV. Argininchlorid.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge | | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | in ccm | in % der berechneten | |
| Es wurde ein von H. Jessen-Hansen aus Edestin durch Spaltung mit Salzsäure dargestelltes Präparat verwendet. Das Arginin wurde durch zweimalige Fällung mit Phosphorwolframsäure und dreimalige Fällung als Silberverbindung gereinigt. Das freie Arginin wurde aus Wasser krystallisiert, dann mit Salzsäure neutralisiert und schließlich das Chlorid aus wässeriger Lösung krystallisiert. Im lufttrockenen Salz wurde gefunden: 26,61 % N und 17,16 % HCl, berechnet: 26,65 % N und 17,30 % HCl. 13 Milligramm-Molekeln (2,7395 g) wurden in 65 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge gelöst und die Lösung mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung, in welcher im voraus jeden 10 ccm 5 ccm $^{n}/_{5}$-Barytlauge zugesetzt waren, welche bei der Titrierung mitgerechnet wurden). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,95 | 99 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,95 | 99,5 | |
| | | 30 | 14,85 | 99 | |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 5,05 | 101 | |
| | | 20 | 10,05 | 100,5 | |
| | | 30 | 15,05 | 100,3 | |
| | **Thymolphthalein** | 10 | 5,20 | 104 | |
| | | 20 | 10,10 | 101 | |
| | | 30 | 15,00 | 100 | |

## Tabelle XXV. Glycylglycin.

| Die zur Analyse verwendete Substanz | Der benutzte Indicator | Die verwendete Menge der $^{n}/_{10}$-Lösung ccm | Die verbrauchte Menge $^{n}/_{5}$-Barytlauge | | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | in ccm | in % der berechneten | |
| Das verwendete Glycylglycin war von S. Palitzsch nach E. Fischer (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 607, 1905) dargestellt worden, indem jedoch statt Natronlauge Barytlauge bei der Präparation benutzt wurde (4 g Glycinanhydrid wurden mit 200 ccm 0,4 normaler Barytlauge 6 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen und dann das Baryt durch Schwefelsäure gefällt). Präparat I (die ersten 9 Versuche) 21,18 % N. Präparat II (die letzten 9 Versuche): 21,16 % N, berechnet: 21,25 % N. 13 Milligramm-Molekeln (1,7178 g) w rden in Wasser gelöst und ie Lösung bis zu 130 ccm verdünnt ($^{n}/_{10}$-Lösung). | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,90 | 98 | Umschlag wie K |
| | | 20 | 9,70 | 97 | |
| | | 30 | 14,55 | 97 | |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 4.90 | 98 | |
| | | 20 | 9,70 | 97 | |
| | | 30 | 14,55 | 97 | |
| | **Thymolphthalein** | 10 | 4,95 | 99 | |
| | | 20 | 9,75 | 97,5 | |
| | | 30 | 14,55 | 97 | |
| | **Phenolphthalein.** Deutliche rote Farbe | 10 | 4,95 | 99 | |
| | | 20 | 9,80 | 98 | |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | |
| | **Phenolphthalein.** Stark rote Farbe | 10 | 4,95 | 99 | |
| | | 20 | 9,80 | 98 | |
| | | 30 | 14,65 | 97,7 | |
| | **Thymolphthalein** | 10 | 5,00 | 100 | |
| | | 20 | 9,80 | 98 | |
| | | 30 | 14,60 | 97,3 | |

Glycinanhydrid wurde nach E. Fischer und E. Fourneau[1]) dargestellt; der Gehalt an Stickstoff betrug 24,35% (berechnet 24,60%). 0,2283 g (2 mg-Molekeln) wurden mit 20 ccm Wasser gut geschüttelt, worauf die Formoltitrierung auf gewöhnliche Weise ausgeführt wurde. Selbst nach Vollendung der Titrierung, als das Flüssigkeitsvolumen 40—50 ccm betrug, war nicht alles Glycinanhydrid gelöst. Der Verbrauch an $^n/_5$-Barytlauge betrug bei der Thymolphthaleintitrierung 0,05 ccm und bei der Phenolphthaleintitrierung gar nichts, und selbst nach 24stündigem Stehenlassen war die Farbenstärke der Kontrollösungen und der Analysen ungefähr die gleiche. Das Glycinanhydrid verhält sich also bei der Formoltitrierung wie ein völlig neutraler Stoff.

5. Spaltung einer Polypeptidmischung. Die von Henriques und Hansen zugesandte Probe von „Monaminosäuren" (siehe S. 62) erwies sich als ein staubfeines, schwach gelbliches Pulver, welches eine nicht unbedeutende Menge Calciumsalze enthielt.

13,5 g wurden in $^1/_2$ l Wasser gelöst und eine geringe Menge Calciumcarbonat abfiltriert. Die Lösung, welche stark alkalisch reagierte, wurde durch die eben nötige Menge Oxalsäure von Calcium gereinigt, worauf die vom Calciumoxalat filtrierte Lösung, welche jetzt stark sauer reagierte, im Vakuum bis zu 250 ccm eingeengt wurde. Mit derselben Pipette wurden danach zwei Proben von je 100 ccm abgemessen. Die eine Probe wurde einfach mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt (A). Die andere Probe wurde mit einer gekühlten Mischung von 35 g konzentrierter Schwefelsäure und 35 g Wasser vermischt und 6 Stunden auf kochendem Wasserbade erwärmt, wodurch die Lösung etwas dunkler gefärbt wurde. Die Schwefelsäure wurde durch die eben nötige Menge 0,4 normaler Barytlauge gefällt, das Bariumsulfat abfiltriert und sehr sorgfältig mit Wasser gewaschen. Es wurde sogar zweimal aus dem Filter in eine Schale gebracht und jedesmal eine Stunde mit $^3/_4$ l Wasser auf dem Wasserbade erwärmt, und dennoch gelang es nicht, dasselbe stickstofffrei zu erhalten; er enthielt im ganzen 43 mg Stickstoff. Das Filtrat und die Waschwässer wurden im Vakuum eingeengt,

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 2870, 1901.

nochmals filtriert und schließlich mit Wasser bis zu 130 ccm verdünnt (B)[1].

Es lagen also zwei Proben von je 130 ccm vor:

A. die ursprüngliche Lösung und

B. die durch Schwefelsäure hydrolysierte Lösung.

10 ccm der Lösung A enthielten im ganzen 38,30 mg Stickstoff, 10 ccm der Lösung B dagegen nur 35,10 mg Stickstoff, der fehlende Stickstoff ($13 \times 3{,}2\ \text{mg} = 41{,}6\ \text{mg}$) befindet sich in dem Bariumsulfat (siehe oben). Es muß indessen als wahrscheinlich angenommen werden, daß auch die vom Bariumsulfat zurückgehaltenen verhältnismäßig kleinen Mengen Stickstoffverbindungen bei den Analysen sich ebenso wie die in der Lösung verbliebenen Stickstoffverbindungen verhalten werden, so daß die durch Analysen von der Lösung B erhaltenen Resultate mit $\frac{38{,}30}{35{,}10}$ multipliziert werden müssen, um Zahlen zu geben, welche mit den Analysenresultaten der Lösung A sich vergleichen lassen.

Die erhaltenen Resultate waren folgende:

Formoltitrierungen. Zu jeder Titrierung wurden 10 ccm der Lösung A bzw. B verwendet und als Kontrollösung 10 ccm Wasser, das durch Zusatz von 3 Tropfen Tropäolin 00 und 9 Tropfen Bismarckbraun (siehe S. 61) eine Farbe angenommen hatte, welche der Farbe der Lösungen A und B annähernd entsprach.

Phenolphthaleintitrierung bis zu stark roter Farbe (Umschlag mit 0,1 ccm):

A: 11,25 ccm $^n/_5$ Bar. . . . . . . . . . 31,50 mg N

B: 12,65 ccm $^n/_5$ Bar. . . . . . . . .

$\left(12{,}65 \times \frac{38{,}30}{35{,}10} = 13{,}80\right)$. . . 38,64 „ „

Thymolphthaleintitrierung (Umschlag mit 0,2 ccm):

A: 11,45 ccm $^n/_5$ Bar. . . . . . . . . . 32,06 mg N

B: 12,95 ccm $^n/_5$ Bar. . . . . . . . .

$\left(12{,}95 \times \frac{38{,}30}{35{,}10} = 14{,}13\right)$. . . 39,56 „ „

[1]) In dieser Lösung konnte eine schwache Spur von Schwefelsäure nachgewiesen werden. 2 ccm der Lösung wurde ein Tropfen $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt, wodurch beim Stehenlassen ein geringer Niederschlag erschien; das Filtrat hiervon enthielt aber Barium und keine Schwefelsäure. Die in der Lösung (B) anwesende Schwefelsäuremenge ist daher so geringfügig, daß dieselbe bei den folgenden Berechnungen ganz außer acht gelassen werden kann.

**Ammoniakbestimmungen.** Durch Destillation mit einem Überschuß von Bariumcarbonat gaben

10 ccm von A eine Ammoniakmenge 0,2 mg N entsprechend
und 10 „ „ B „ „ 0,6 „ „ „

$$\left(0{,}6 \times \frac{38{,}30}{35{,}10} = 0{,}65\right)$$

**Phosphorwolframsäurefällungen.** Da der durch Phosphorwolframsäure erzeugte Niederschlag in einem einigermaßen reichlichen Überschuß des Fällungsmittels wenigstens zum Teil löslich war, wurde durch vorläufige Versuche die Phosphorwolframsäuremenge bestimmt, welche notwendig war, um unter den gegebenen Verhältnissen eine möglichst vollständige Fällung zu erreichen, und diese Menge wurde dann bei den endgültigen Versuchen benutzt. Es wurde bei zwei verschiedenen Aciditätsstärken gefällt. Bei jedem Versuche wurden 15 ccm der Lösung A bzw. B verwendet und nach Zusatz der Phosphorwolframsäure wurde mit Wasser bis zu 25 ccm verdünnt. Nach Stehenlassen bis zum nächsten Tage wurde filtriert und in 10 ccm des Filtrats die Stickstoffmenge nach Kjeldahl bestimmt.

Fällung in schwach saurer Flüssigkeit {
15 ccm der Lösung A bzw. B,
0,30 ccm 5 n-Schwefelsäure,
7,5 ccm 10 prozentiger Phosphorwolframsäure
+ Wasser bis zu 25 ccm.

A: 10 ccm des Filtrats enthielten 22,20 mg N, in 10 ccm der Lösung A sind dann 37,00 mg durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffes vorhanden;

also fällbarer Stickstoff: 38,30 mg — 37,00 mg = 1,30 mg.

B: 10 ccm des Filtrats enthielten 19,90 mg N, also in 10 ccm der Lösung B:

nicht fällbarer Stickstoff . . . . . . . . . 33,17 mg
und fällbarer Stickstoff (35,10 — 33,17 =) . 1,93 mg

$$\left(1{,}93 \times \frac{38{,}30}{35{,}10} = 2{,}11\right)$$

Fällung in stärker saurer Flüssigkeit {
15 ccm der Lösung A bzw. B,
3,75 ccm 5 n-Schwefelsäure,
4,5 ccm 10 prozentiger Phosphorwolframsäure
+ Wasser bis zu 25 ccm.

A: 10 ccm des Filtrats enthielten 21,60 mg N, also in 10 ccm der Lösung A:

nicht fällbarer Stickstoff . . . . . . . . . 36,00 mg
und fällbarer Stickstoff (38,30 — 36,00 =) . 2,30 mg

B: 10 ccm des Filtrats enthielten 19,40 mg N, also in 10 ccm der Lösung B:

nicht fällbarer Stickstoff . . . . . . . . . 32,33 mg
und fällbarer Stickstoff (35,10 — 32,33 =) . 2,77 mg

$$\left(2{,}77 \times \frac{38{,}30}{35{,}10} = 3{,}02\right)$$

In Tabelle XXVI sind diese Analysenresultate übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle XXVI.

| Art der Analyse | A Stick-stoff in mg | B Stick-stoff in mg | Die Differenz B—A in mg Stickstoff | in % des Gesamt-stickstoffes (38,30 mg) |
|---|---|---|---|---|
| Formoltitrierung (Phenolphthalein, stark rote Farbe) | 31,50 | 38,64[1]) | 7,14 | 18,64 |
| Formoltitrierung (Thymolphthalein) | 32,06 | 39,56[1]) | 7,50 | 19,58 |
| Ammoniakbestimmung | 0,20 | 0,65 | 0,45 | 1,17 |
| Phosphorwolframsäurefällung (in schwach saurer Flüssigkeit) | 1,30 | 2,11 | 0,81 | 2,11 |
| Phosphorwolframsäurefällung (in stärker saurer Flüssigkeit) | 2,30 | 3,02 | 0,72 | 1,88 |

6. Spaltung einiger Proteinstoffe. Wie schon oben erwähnt (siehe S. 63), wird die Formoltitrierung schon seit einiger Zeit im hiesigen Laboratorium bei proteolytischen Messungen angewandt. In diesem Abschnitte werden dann die Versuchsresultate bei einigen Proteolysen, wo nicht nur die Formoltitrierung, sondern auch die Gerbsäurefällung als Meßmethode verwendet

[1]) Man darf sich nicht dadurch beirren lassen, daß die Formoltitrierung hier einen Gehalt an Carboxylgruppen ergeben hat, welcher einer größeren Stickstoffmenge als dem Gesamtstickstoff der betreffenden Lösung entspricht. Es ist ja nur in dem Falle, wo gleich viele Stickstoffatome und Carboxylgruppen vorhanden sind, daß der Stickstoffgehalt aus dem Carboxylgruppengehalt berechnet werden kann. Bei stark sauer reagierenden Lösungen, wie die oben erwähnten, wird der auf diese Weise bestimmte Stickstoffgehalt gewöhnlich zu hoch ausfallen. Es kommt aber hier auch nicht darauf an, durch die Formoltitrierung die Stickstoffmenge in A und B, sondern nur die Differenz zwischen diesen Stickstoffmengen zu bestimmen; denn diese Differenz gibt die Menge des vor der Säurespaltung peptidgebundenen Stickstoffes an.

wurden, mitgeteilt werden. Dieses hat lediglich zum Zweck, die Verschiedenheiten der zwei angewandten Methoden klarzulegen, während die Folgerungen, welche in anderen Richtungen aus den Versuchen zu ziehen sind, nicht in dieser Abhandlung Besprechung finden.

Bei den Versuchen wurden folgende Lösungen verwendet:

a) Eine Pepsinlösung, durch Lösen von 1 g Pepsin (Grübler) in $^1/_2$ l $^n/_{100}$-Salzsäure dargestellt.

b) Eine Pankreatinlösung, durch Lösen von 1 g Pankreatin (Rhenania) in $^1/_2$ l Wasser dargestellt.

c) Eine Erepsinlösung, im wesentlichen auf die von O. Cohnheim[1]) angegebene Weise dargestellt. Der Darm eines frisch getöteten Hundes[2]) wurde gut gespült, danach die Schleimhaut abgeschabt und gründlich mit Sand und ein wenig 0,9 prozentiger Kochsalzlösung zerrieben, schließlich wurde die Mischung mit Infusorienkiesel, bis die Masse beinahe fest war, innig vermengt und in einer Buchnerschen Presse ausgepreßt. Der sehr trübe Preßsaft wurde aufs neue mit Infusorienkiesel gemischt, worauf die Pressung wiederholt wurde. Der dadurch gewonnene, beinahe klare Saft wurde durch Filtrierpapier filtriert und das Filtrat als Erepsinlösung benutzt.

d) Eine ca. 4 prozentige Lösung von Witte-Pepton. Die Lösung wurde durch Schütteln von 40 g käuflichem Witte-Pepton mit 1 l Wasser 2 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur und nachträgliche einstündige Erwärmung auf dem Wasserbade dargestellt. Die gekühlte und danach filtrierte Lösung wurde nach passendem Zusatz von Salzsäure bzw. Natronlauge für Verdauungsversuche mit allen drei Enzymen benutzt.

e) Eine saure Caseinlösung, durch einstündiges Schütteln von 10 g Casein (Kahlbaumsches Präparat „nach Hammarsten"), 60 ccm $^n/_5$-Salzsäure und 280 ccm Wasser dargestellt. Die Lösung wurde nur für die Pepsinverdauung verwendet.

f) Eine alkalische Caseinlösung, durch einstündiges Schütteln von 40 g Casein, 30 ccm normaler Natronlauge und 900 ccm Wasser und nachträglichem Zusatz von Wasser bis zu einem Liter dargestellt. Diese Lösung wurde für die Pankreatin- und Erepsinverdauung verwendet.

g) Eine neutrale, ca. 4 prozentige Lösung von genuinem Eiereiweiß. 300 g Hühnereiweiß, 573 g Wasser und 27 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure wurden 2 Stunden gut geschüttelt, danach im Eisschrank bis zum nächsten Tage stehen gelassen und schließlich filtriert. Diese Lösung wurde nur für die Pepsinverdauung benutzt.

h) Eine neutrale, ca. 2,2 prozentige Lösung von partiell verdautem Eiereiweiß. Die unter g) erwähnte Lösung von genuinem Eiereiweiß

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 457, 1901.

[2]) Die Herren Prof. Henriques und Prof. Hansen, die in liebenswürdigster Weise das nötige Material zu meiner Verfügung gestellt haben, bitte ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank genehmigen zu wollen.

wurde mit Salzsäure gesäuert und bei 37° 20 Stunden einer Pepsinverdauung unterworfen, wonach die der Salzsäure äquivalente Natronmenge zugesetzt wurde. Diese Lösung wurde nur für die Pankreatinverdauung angewendet.

Es wurden folgende Verdauungsmischungen untersucht:

### Pepsinverdauung.

Nr. 1. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 15 ccm n-Salzsäure + 75 ccm Pepsinlösung (a) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 2. Die saure Caseinlösung (e) + 150 ccm Pepsinlösung (a).

Nr. 3. 600 ccm der Lösung genuinen Eiereiweißes (g) + 60 ccm n-Salzsäure + 320 ccm Pepsinlösung (a) + Wasser bis zu 1 l.

### Pankreatinverdauung.

Nr. 4. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 5. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 17,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 6. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 37,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 7. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 6,5 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 8. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 9. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 12,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 10. 150 ccm der Lösung von partiell verdautem Eiereiweiß (h) + 13,5 ccm $^n/_5$-Salzsäure + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 11. 150 ccm der Lösung von partiell verdautem Eiereiweiß (h) + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 12. 150 ccm der Lösung von partiell verdautem Eiereiweiß (h) + 10,5 ccm $^n/_5$-Natronlauge + 75 ccm Pankreatinlösung (b) + Wasser bis zu 250 ccm.

### Erepsinverdauung.

Nr. 13. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 65 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 14. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 17,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 65 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 15. 125 ccm Witte-Pepton (d) + 37,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 65 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 16. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 6,5 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure + 45 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 17. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 45 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Nr. 18. 125 ccm alkalischer Caseinlösung (f) + 12,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 45 ccm Erepsinlösung (c) + Wasser bis zu 250 ccm.

Die Verdauungen wurden unter Zusatz von Toluol in Glaskolben bei 37° in einem elektrisch geheizten Thermostaten vorgenommen.

Zur Formoltitrierung und zur Gerbsäurefällung wurden Proben gleich anfangs und dann weiter nach 6-, 30- und 150stündiger Verdauung entnommen; die Proben wurden sofort nach der Entnahme analysiert.

Für die **Gerbsäurefällung** wurden 20 ccm verwendet. Die darin anwesende Salzsäure- bzw. Natronlauge wurde durch die entsprechende Natron- bzw. Salzsäuremenge neutralisiert und danach 2 ccm normaler Natriumacetatlösung (die durch Zutröpfeln von Essigsäure Lackmus gegenüber neutralreagierend gemacht worden war) zugesetzt. Schließlich wurde mit 10 ccm 10prozentiger wässeriger Gerbsäurelösung gefällt und mit Wasser bis zu 50 ccm aufgefüllt. Nach gutem Schütteln und Stehenlassen bis zum nächsten Tage wurde filtriert, und in 25 ccm des Filtrats der Stickstoffgehalt nach **Kjeldahl** bestimmt. Durch Multiplikation der gefundenen Stickstoffmenge mit 2 erhält man die in Tabelle XXVII unter der Rubrik „Durch Gerbsäure nicht fällbarer Stickstoff in 20 ccm der Versuchsflüssigkeit" angeführten Zahlen, indem das Volumen des Niederschlags außer acht

Tabelle

| Das verwendete Enzym | Der verwendete Proteinstoff | Versuchs-Nummer | Die anfängliche Wasserstoffionenkonzentration $10^{\div p}$ p. | Der Gesamtstickstoff in 20 ccm der Versuchsflüssigkeit mg N | Durch Gerbsäure nicht fällbarer Stickstoff in 20 ccm der Versuchsflüssigkeit | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | gleich anfangs mg N | nach 6 Stunden mg N | nach 30 Stunden mg N | nach 150 Stunden mg N |
| Pepsin | Witte-Pepton | 1 | 1,5 | 52,25 | 6,10 | 11,10 | 13,20 | 17,10 |
| | Casein | 2 | 2,6 | 58,10 | 1,00 | 7,50 | 11,90 | 19,00 |
| | Genuines Eiereiweiß | 3 | 1,7 | 65,40 | 1,00 | 12,70 | 24,80 | 34,80 |
| Pankreatin | Witte-Pepton | 4 | 4,9 | 52,00 | 6,90 | 15,20 | 25,60 | 33,60 |
| | | 5 | 7,1 | 52,00 | 7,00 | 25,10 | 34,90 | 41,70 |
| | | 6 | 9,4 | 52,00 | 7,20 | 24,90 | 35,70 | 41,20 |
| | Casein | 7 | 6,7 | 57,45 | 2,00 | 28,40 | 40,60 | 46,40 |
| | | 8 | 8,1 | 57,45 | 1,40 | 31,30 | 41,80 | 48,20 |
| | | 9 | 8,2 | 57,45 | 1,50 | 31,50 | 42,40 | 48,70 |
| | Partiell verdautes Eiereiweiß | 10 | 4,7 | 36,57 | 13,10 | 15,00 | 19,50 | 24,80 |
| | | 11 | 7,0 | 36,57 | 13,10 | 22,00 | 27,00 | 34,00 |
| | | 12 | 8,8 | 36,57 | 13,50 | 21,80 | 26,90 | 34,70 |
| Erepsin | Witte-Pepton | 13 | 5,0 | 55,85 | 9,70 | 13,70 | 21,20 | 36,40 |
| | | 14 | 7,2 | 55,85 | 9,50 | 18,90 | 33,00 | 46,00 |
| | | 15 | 9,5 | 55,85 | 9,50 | 19,90 | 36,60 | 48,20 |
| | Casein | 16 | 6,9 | 62,20 | 3,80 | 6,70 | 21,90 | — |
| | | 17 | 8,2 | 62,20 | 3,80 | 7,00 | 22,50 | 54,60 |
| | | 18 | 8,3 | 62,20 | 3,80 | 6,40 | 20,70 | — |

gelassen wurde. Durch vorläufige Versuche wurde gezeigt, daß die verwendete Gerbsäuremenge eine passende war, und bei jedem Versuch wurde konstatiert, daß ein weiterer Zusatz von Gerbsäure ohne fällende Wirkung war.

Für die Formoltitrierung wurden ebenso 20 ccm verwendet. Die Phenolphthaleintitrierung bis zu stark roter Farbe und unter Anwendung von $^{n}/_{5}$-Barytlauge wurde jedesmal ausgeführt, der Umschlag war immer gut, gewöhnlich fast ebenso scharf wie der der Kontrollösung. Nebenbei wurde oft eine Thymolphthaleintitrierung vorgenommen; es geschah aber bisweilen, wie es weiter unten näher erörtert werden wird, daß der anwesende Alkohol einen so reichlichen Niederschlag hervorrief, daß die Titrierung unsicher wurde. Die den Verdauungsflüssigkeiten im voraus zugesetzten Salzsäure- bzw. Natronmengen wurden selbstverständlich bei der Berechnung der Analysen mitgerechnet. Der Verbrauch an $^{n}/_{5}$-Barytlauge, auf diese Weise korrigiert, mit 2,8 multipliziert, gibt die den anwesenden Carboxylgruppen entsprechende Stickstoffmenge in Milligramm an, diese Zahlen sind in Tabelle XXVII unter der Rubrik „Formoltitrierung" angeführt.

## XXVII.

**Formoltitrierung** in 20 ccm der Versuchsflüssigkeit. Der Verbrauch an $^{n}/_{5}$-Barytlauge mit 2,8 multipliziert, gibt die entsprechende Stickstoffmenge in Milligramm an.

| Phenolphthalein bis zu stark roter Farbe | | | | Thymolphthalein | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| gleich anfangs mg N | nach 6 Stunden mg N | nach 30 Stunden mg N | nach 150 Stunden mg N | gleich anfangs mg N | nach 6 Stunden mg N | nach 30 Stunden mg N | nach 150 Stunden mg N |
| 8,68 | — | 10,36 | 12,04 | 8,82 | — | 10,50 | 12,18 |
| 8,68 | 11,06 | 12,18 | 13,72 | (10,78) | — | 12,32 | 14,28 |
| 3,92 | 5,60 | 8,40 | 11,76 | (8,54) | (9,52) | 8,96 | 11,76 |
| 8,26 | 11,48 | 16,38 | 20,44 | 9,24 | — | 16,38 | 20,72 |
| 8,40 | 15,12 | 20,30 | 27,86 | 9,38 | — | 20,44 | 28,14 |
| 8,54 | 14,98 | 20,44 | 28,00 | 8,96 | — | 20,58 | 28,70 |
| 9,07 | 19,43 | 24,61 | 28,95 | (11,87) | — | 24,75 | 29,09 |
| 9,10 | 20,02 | 24,50 | 29,12 | (11,34) | — | — | 29,54 |
| 9,52 | 19,74 | 25,06 | 29,12 | (11,20) | — | — | 29,68 |
| 4,96 | 6,50 | 8,88 | 11,12 | 5,24 | — | 8,74 | 11,40 |
| 4,90 | 9,38 | 12,74 | 16,66 | 5,60 | — | 12,88 | 16,94 |
| 5,15 | 9,07 | 12,99 | 17,89 | 5,57 | — | 13,41 | 18,17 |
| 11,20 | 12,74 | 17,78 | 32,90 | 11,48 | — | 18,90 | 33,04 |
| 11,34 | 15,68 | 25,76 | 44,10 | 11,06 | — | 26,74 | 44,52 |
| 10,92 | 16,38 | 28,28 | 47,32 | 11,62 | — | 29,26 | 47,60 |
| 11,59 | 14,25 | 25,31 | — | (14,81) | — | 27,55 | — |
| 11,76 | 13,72 | 23,10 | 55,58 | (14,98) | — | 24,64 | 58,24 |
| 11,62 | 13,44 | 23,52 | — | (14,98) | — | 24,92 | — |

## Tabelle XXVIII.

| Das verwendete Enzym | Der verwendete Proteinstoff | Versuchs-Nummer | Die Enzymwirkung, durch die der Gerbsäurefällung entzogene Stickstoffmenge gemessen | | | Die Enzymwirkung, durch die Formoltitrierung mit Phenolphthalein bis zu stark roter Farbe gemessen | | | Das Verhältnis zwischen der durch die Gerbsäurefällung und der durch die Formoltitrierung gemessenen Enzymwirkung | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | im Verlaufe | | | im Verlaufe | | | im Verlaufe | | |
| | | | der ersten 6 Stunden mg N | der nächsten 24 Stunden mg N | der folgenden 5×24 Stunden mg N | der ersten 6 Stunden mg N | der nächsten 24 Stunden mg N | der folgenden 5×24 Stunden mg N | der ersten 6 Stunden | der nächsten 24 Stunden | der folgenden 5×24 Stunden |
| Pepsin | Witte-Pepton | 1 | 5,00 | 2,10 | 3,90 | 1,68 | | 1,68 | 4,23 | | 2,32 |
| | Casein | 2 | 6,50 | 4,40 | 7,10 | 2,38 | 1,12 | 1,54 | 2,73 | 3,93 | 4,61 |
| | Genuines Eiereiweiß | 3 | 11,70 | 12,10 | 10,00 | 1,68 | 2,80 | 3,36 | 6,96 | 4,32 | 2,98 |
| Pankreatin | Witte-Pepton | 4 | 8,30 | 10,40 | 8,00 | 3,22 | 4,90 | 4,06 | 2,58 | 2,12 | 1,97 |
| | | 5 | 18,10 | 9,80 | 6,80 | 6,72 | 5,18 | 7,56 | 2,69 | 1,89 | 0,90 |
| | | 6 | 17,70 | 10,80 | 5,50 | 6,44 | 5.46 | 7,56 | 2,75 | 1,98 | 0,73 |
| | Casein | 7 | 26,40 | 12,20 | 5.80 | 10,36 | 5.18 | 4,34 | 2,55 | 2.36 | 1,34 |
| | | 8 | 29,90 | 10.50 | 6,40 | 10.92 | 4,48 | 4.62 | 2,74 | 2,34 | 1,39 |
| | | 9 | 30,00 | 10.90 | 6,30 | 10.22 | 5,32 | 4.06 | 2.94 | 2.05 | 1,55 |
| | Partiell verdautes Eiereiweiß | 10 | 1,90 | 4,50 | 5.30 | 1,54 | 2.38 | 2,24 | 1,23 | 1,89 | 2,37 |
| | | 11 | 8,90 | 5,00 | 7,00 | 4,48 | 3,36 | 3.92 | 1,99 | 1,49 | 1,79 |
| | | 12 | 8,30 | 5,10 | 7,80 | 3,92 | 3,92 | 4.90 | 2,12 | 1,30 | 1,59 |
| Erepsin | Witte-Pepton | 13 | 4,00 | 7,50 | 15,20 | 1,54 | 5,04 | 15,12 | 2,60 | 1,49 | 1,01 |
| | | 14 | 9,40 | 14,10 | 13,00 | 4,34 | 10.08 | 18,34 | 2,17 | 1,40 | 0,71 |
| | | 15 | 10.40 | 16.70 | 11,60 | 5.46 | 11.90 | 19,04 | 1,90 | 1,40 | 0,61 |
| | Casein | 16 | 2,90 | 15,20 | — | 2,66 | 11.06 | — | 1,09 | 1,37 | — |
| | | 17 | 3.20 | 15,50 | 32,10 | 1,96 | 9,38 | 32,48 | 1,63 | 1,65 | 0,99 |
| | | 18 | 2,60 | 14,30 | — | 1,82 | 10,08 | — | 1,43 | 1,42 | — |

An die Tabellen XXVII und XXVIII werde ich des besseren Verständnisses wegen einige Bemerkungen anknüpfen.

Schon im Anfang dieser Abhandlung ist erwähnt worden (siehe S. 58 u.), daß gewisse genuine Proteine mit Formol und Bariumhydroxyd Verbindungen liefern, die besonders in Alkohol schwer löslich sind, und daher namentlich die Thymolphthaleintitrierung beeinflussen können. Dieses Verhältnis geht aus der Tabelle XXVII deutlich hervor, wenn man die Resultate vergleicht, welche einerseits die Phenolphthalein- und andererseits die Thymolphthaleintitrierung gegeben haben. Bei allen mit Witte-Pepton angestellten Versuchen war der bei der Titrierung entstandene Niederschlag nur geringfügig, und die Thymolphthaleintitrierungen gaben daher auch nur ein wenig höhere Resultate als die entsprechenden Phenolphthaleintitrierungen, ganz wie es nach den mit den reinen Aminosäuren erhaltenen Resultaten zu erwarten war.

Andersartig gestalteten sich die Caseinversuche. Bei den Titrierungen, welche gleich nach der Zubereitung der Verdauungsflüssigkeiten angestellt wurden, entstand nur ein schwacher Niederschlag, wenn Phenolphthalein, dagegen ein starker Niederschlag, wenn Thymolphthalein als Indicator verwendet wurde. Da dieser Niederschlag wahrscheinlich aus Bariumsalzen besteht, welche in gelöstem Zustande zum Teil unter Bildung von Bariumhydroxyd hydrolysiert sein werden, hat die Niederschlagsbildung einen zu großen Verbrauch an Barytlauge zur Folge gehabt. Die Thymolphthaleintitrierungen sind daher viel zu hoch ausgefallen, weshalb die diesbezüglichen Zahlen in Tabelle XXVII eingeklammert sind. Sobald aber die Verdauung des Caseins mit Pepsin bzw. Pankreatin einige Stunden gedauert hatte, ließ sich die Flüssigkeit sowohl mit Phenolphthalein als auch mit Thymolphthalein als Indicator ohne Niederschlagsbildung glatt formoltitrieren. Aus der Tabelle XXVII geht es denn auch hervor, daß nach 30- bzw. 150stündiger Verdauung die Titrierungen mit den beiden Indicatoren gut übereinstimmen. Bei der Erepsinverdauung des Caseins ist etwas Ähnliches der Fall; aber hier entstand selbst nach mehrtägiger Verdauung sowohl bei der Phenol- als auch bei der Thymolphthaleintitrierung ein schwacher Niederschlag, und die Übereinstimmung der erhaltenen Resultate ist daher nicht so gut als die eben erwähnte.

Ein ganz besonderes Interesse bietet der Versuch mit genuinem Eiereiweiß, welcher nur mit Pepsin angestellt wurde, da genuines Eiereiweiß nur äußerst langsam durch Pankreatin angegriffen wird. Die während der Pepsinverdauung ausgeführten Phenolphthaleintitrierungen zeigen, wie es zu erwarten war, und wie es aus Tabelle XXVII ersichtlich ist, ein regelmäßiges Steigen des Carboxylgehalts, und nur bei der ersten Titrierung erschien ein geringer Niederschlag, bei den späteren Titrierungen blieb die Flüssigkeit ganz klar. Ganz anders bei den Thymolphthaleintitrierungen; hier erschien ein starker Niederschlag bei der ersten Titrierung, welche daher einen viel zu hohen Carboxylgehalt ergab, und dasselbe ist, wenn auch in geringerem Grade, bei der zweiten Titrierung nach sechsstündiger Proteolyse der Fall. Erst nach 30 stündiger Proteolyse blieb die Flüssigkeit bei der Thymolphthaleintitrierung ganz klar, und von nun an zeigen denn auch die Titrierungen mit den zwei Indicatoren eine gute Übereinstimmung. Bei den Titrierungen der Pankreatinversuche mit partiell verdautem Eiereiweiß (Versuche Nr. 10, 11 und 12) blieben dem oben Angeführten gemäß die Flüssigkeiten stets völlig klar, und die Titrierungen mit den beiden Indicatoren stimmten gut überein.

Es ist nach dem hier Erörterten selbstverständlich, daß nur die bei der Phenolphthaleintitrierung gewonnenen Resultate als zuverlässig anzusehen sind; die Thymolphthaleintitrierungen sind nur angeführt, um das oben erwähnte Verhältnis zu erläutern. Will man genuine Proteine mit Thymolphthalein als Indicator formoltitrieren, ist es, um ein zuverlässiges Resultat zu erhalten, gewöhnlich notwendig, die Titrierung mit Natronlauge auszuführen (siehe S. 59 o.).

Es erhellt hieraus, und es ist auch im vorhergehenden öfters betont worden, daß die Formoltitrierung allerdings bei den meisten proteolytischen Spaltungen anwendbar ist, ihre Ausführung muß aber — wie dieses wohl bei allen Methoden der Fall ist — bis zu einem gewissen Grade nach Maßgabe der vorhandenen Verhältnisse modifiziert werden. Während die Titrierung der genuinen Proteine und ihrer anfänglichen Zersetzungsprodukte eine gewisse Aufmerksamkeit erfordert, bietet die Titrierung während des weiter vorgeschrittenen Verdauungsprozesses absolut keine

Schwierigkeiten, und bei der Untersuchung von Polypeptiden und von Polypeptidspaltungen, wo zurzeit eine einigermaßen allgemein brauchbare Methode noch fehlt, wird die Formoltitrierung von großem Nutzen sein.

Es ist leicht verständlich, auf welche Weise die Tabelle XXVIII aus der Tabelle XXVII berechnet wurde, und werde ich mich daher darauf beschränken, an die drei letzten Kolonnen der Tabelle XXVIII einige Bemerkungen zu knüpfen. In diesen Kolonnen findet sich das Verhältnis zwischen der durch die Gerbsäurefällung und der durch die Formoltitrierung gemessenen Enzymwirkung angegeben. Falls diese beiden Meßmethoden ein wirkliches Maß für dieselbe durch die Proteolyse verursachte Änderung des Proteinstoffes geben, so müßte dieses Verhältnis gleich 1 oder doch einer einigermaßen konstanten Zahl sein. Die in den drei letzten Rubriken der Tabelle XXVIII enthaltenen Zahlen zeigen indes, daß dieses durchaus nicht der Fall ist. Bei der Pepsinverdauung ist das Verhältnis stets größer, oft weit größer als 2. Bei der Pankreatin-, und noch mehr bei der Erepsinverdauung, kann sich das Verhältnis der Verdauung in hohem Grade verschieben, ja die Verdauung kann unter günstigen Umständen so weit gehen, daß das Verhältnis kleiner als 1 wird. Sehr deutlich tritt diese Verschiebung des Verhältnisses bei den Versuchen mit Witte-Pepton hervor, und zwar besonders bei den Versuchen (Nr. 5, 6, 14 und 15), in welchen die Wasserstoffionenkonzentration günstig gewesen und die Verdauung daher weit vorgeschritten ist. Auch bei den Caseinversuchen ist die Verschiebung deutlich wahrnehmbar, während dagegen die Pankreatinspaltung des partiell verdauten Eiereiweißes offenbar nicht so weit gelangt ist, daß die Verschiebung wahrnehmbar geworden ist (siehe übrigens S. 64).

Über die in der vierten Rubrik der Tabelle XXVII bei den einzelnen Versuchen angeführten anfänglichen Wasserstoffionenkonzentrationen möchte ich noch ein paar Bemerkungen machen.

Es ist allgemein bekannt, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Verdauungsflüssigkeit für die Geschwindigkeit der Verdauung von großer Bedeutung ist; es ist aber nicht bekannt, in welch hohem Grade die Wasserstoffionenkonzentration bereits während den allerersten Stadien der Proteolyse sich verändert.

Die in Tabelle XXVII angeführten Wasserstoffionenkonzentrationen geben daher auch nur den Wasserstoffionengehalt der frisch bereiteten Verdauungsflüssigkeiten an. Um einen Begriff von den hier in Frage kommenden Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration zu geben, mögen einige Zahlen angeführt werden, welche bei einer Pankreatinverdauung von Witte-Pepton unter Umständen, welche denjenigen des Versuches Nr. 6 (Tabelle XXVII) vollständig entsprachen, gefunden sind.

Sofort nach der Zubereitung der Verdauungsflüssigkeit war die Wasserstoffionenkonzentration . . . . . . . $10^{-9,37}$

Nach Stehenlassen bei gewöhnlicher Temperatur war die Wasserstoffionenkonzentration:

nach 10 Minuten . . . . . . . . . . . . . . $10^{-9,13}$
„ 20 „ . . . . . . . . . . . . . $10^{-8,96}$
„ 1 Stunde . . . . . . . . . . . . . . . $10^{-8,63}$
„ 22 Stunden . . . . . . . . . . . . . . $10^{-7,81}$

10 ccm der hier untersuchten Lösung enthielten (vergleiche Versuch Nr. 6, S. 91): 5 ccm Witte-Pepton + 3 ccm Pankreatinlösung + 1,5 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge + 0,5 ccm Wasser.

Wurden entsprechende Lösungen, nur mit weniger $^n/_{10}$-Natronlauge, dargestellt, zeigte es sich, daß die Wasserstoffionenkonzentrationen sofort nach Zubereitung dieser Lösungen die folgenden waren:

a) 5 ccm W.-P. + 3 ccm Pankr. + 1,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH + 0,7 ccm $H_2O$ . . . . $10^{-8,96}$

b) 5 ccm W.-P. + 3 ccm Pankr. + 1,1 ccm $^n/_{10}$-NaOH + 0,9 ccm $H_2O$ . . . . $10^{-8,35}$

c) 5 ccm W.-P. + 3 ccm Pankr. + 0,9 ccm $^n/_{10}$-NaOH + 1,1 ccm $H_2O$ . . . . $10^{-7,95}$

Durch Vergleichung dieser Resultate mit den oben erwähnten erkennt man leicht, daß es sich um meßbare Natriumhydroxydmengen handelt, welche in den ersten Stadien der Proteolyse im Laufe von verhältnismäßig kurzer Zeit und selbst bei gewöhnlicher Temperatur neutralisiert werden.

Eine solche Neutralisation findet nicht statt, wenn das Enzym vor dem Versuche durch halbstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade vernichtet worden ist. Eine mit einer solchen

erwärmten und dann gekühlten Enzymlösung, sonst aber ganz wie die erst erwähnte dargestellte Mischung (5 ccm W.-P. + 3 ccm Pankr. + 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH + 0,5 ccm $H_2O$), zeigte sofort nach der Zubereitung

eine Wasserstoffionenkonzentration von . . . $10^{-9,37}$
Nach 18stündigem Stehenlassen bei gewöhnlicher Temperatur war die Konzentration . $10^{-9,30}$
Nach weiteren eintägigem Stehenlassen bei 37° wurde gefunden . . . . . . . . . . . . . $10^{-9,06}$
und nach weiteren zweitägigem Stehenlassen bei 37° . . . . . . . . . . . . . . . . $10^{-9,01}$

Es ist leicht verständlich, daß eine Hydrolyse des Proteins unter Bildung von Amino- und Carboxylgruppen einen Verbrauch an Natronlauge, also eine Verminderung des Hydroxylionengehalts zur Folge haben muß. Es läßt sich indessen durch die Formoltitrierung leicht zeigen, daß bei gewöhnlicher Temperatur und im Laufe der kurzen Zeiträume, von welchen hier die Rede ist, nur ganz minimale Mengen von Peptidbindungen gelöst werden, so daß die Erklärung der eben erwähnten Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration auf anderen Wegen gesucht werden muß. Eine eingehendere Erörterung dieser Frage liegt jedoch außerhalb des Rahmens dieser Abhandlung; ich hoffe aber, in späteren Abhandlungen Beiträge zum Verständnis der betreffenden Verhältnisse, wie auch zur Bestimmung der für die proteolytischen Enzymspaltungen optimalen Wasserstoffionenkonzentrationen liefern zu können.

---

## Anhang.

### Das Verhältnis der Harnsäure bei der Formoltitrierung.

Obwohl ich das Verhältnis der Purinderivate bei der Formoltitrierung nicht systematisch untersucht habe, möchte ich doch zum Schluß die Titrierung — mit oder ohne Zusatz von Formol — der wichtigsten Purinverbindung, der Harnsäure, in Kürze erwähnen.

Ohne Zusatz von Formol läßt sich, wie bekannt, die Harnsäure mit Natronlauge und Phenolphthalein einigermaßen scharf wie eine einbasische Säure titrieren; es gelingt aber nur bei

Anwendung von großen Wassermengen, das gebildete Natriumurat in Lösung zu halten. Noch schlimmer stellt sich die Sache, wenn Barytlauge für die Titrierung verwendet wird. Wird Harnsäure in Wasser mit ein wenig Phenolphthalein aufgeschlämmt und darauf $^n/_5$-Barytlauge zugesetzt, so entfärbt sich die gebildete rote Lösung nur sehr langsam selbst bei gutem Schütteln, und selbst wenn die Barytlauge bei weitem nicht in der berechneten Menge (1 Äquivalent Baryt für jedes Mol. Harnsäure) zugesetzt wird. Wird andererseits ein Überschuß an Barytlauge (z. B. $1^1/_2$ mal der berechneten) zugesetzt, dann bleibt die Flüssigkeit selbstverständlich stark rot, nach sorgfältigem Schütteln entfärbt dieselbe sich aber bei Zusatz von weit weniger Salzsäure als berechnet, während der Niederschlag stets einen rötlichen Ton behält. Nach kurzer Zeit wird auch die Flüssigkeit wieder rot und kann durch Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure entfärbt werden; diese Operation kann wiederholt werden. Der Grund hierfür ist natürlich erstens der, daß sowohl die Harnsäure als auch das Bariumurat schwerlöslich sind; dazu kommt aber noch, daß die Harnsäure, wie bekannt, bei einer genügend großen Hydroxylionenkonzentration mehr als ein Äquivalent Bariumhydroxyd zu neutralisieren vermag, während im Gegenteil das gebildete bariumreiche, schwerlösliche Bariumurat wieder hydrolysiert wird, sobald der Hydroxylionengehalt der obenstehenden Flüssigkeit durch Zusatz von Salzsäure herabgedrückt wird.

Nach Zusatz von Formol läßt sich die Harnsäure glatt und scharf wie eine einbasische Säure titrieren. Die Titrierungen werden ganz wie im Anfang dieser Abhandlung (siehe S. 64) beschrieben, ausgeführt; es wird für eine Harnsäuremenge von 0,3—0,5 g 20 ccm Wasser und die gewöhnlichen Formol- und Indicatormengen, wie auch eine entsprechende Kontrollösung verwendet. Bei Anwendung von dem gewöhnlichen schwachen Überschuß an Natronlauge löst sich die Harnsäure vollständig durch Schütteln im Laufe von ein paar Minuten, und die Rücktitrierung geht tadellos vonstatten, indem der Umschlag ebenso scharf wie der der Kontrollösung ist, ganz gleichgültig ob Phenol- oder Thymolphthalein als Indicator benutzt wird. Bei Anwendung von $^n/_5$-Barytlauge löst sich die Harnsäure weit schwieriger; bei der Phenolphthaleintitrierung, wo kein Alkohol benutzt wird, geht die Harnsäure jedoch nach wieder-

holtem Schütteln im Laufe von 10—15 Minuten so gut wie vollständig in Lösung, und die Rücktitrierung verläuft dann tadellos mit einem scharfen und guten Umschlag. Die Thymolphthaleintitrierung ist bei Anwendung von Barytlauge dagegen nicht zu empfehlen, weil der anwesende Alkohol das Lösen des Bariumsalzes erschwert.

In der folgenden Tabelle XXIX sind die Resultate einiger Formoltitrierungen von Harnsäure zusammengestellt.

Tabelle XXIX. **Formoltitrierung der Harnsäure.**

| Die abgewogene Harnsäuremenge g | Die der Harnsäure entsprechende Menge $^{n}/_{5}$-Natron- bzw. Barytlauge. berechnet ccm | gefunden ccm | Die angewendete Formoltitrierung |
|---|---|---|---|
| 0,3152 | 9,37 | 9,34 | $^{n}/_{5}$-Natronlauge; Phenolphthaleintitrierung bis zu schwach bzw. stark roter Farbe |
| 0,4891 | 14,54 | 14,46 | |
| 0,3157 | 9.39 | 9,45 | $^{n}/_{5}$-Natronlauge Thymolphthaleintitrierung |
| 0,3348 | 9,95 | 10,02 | |
| 0,4638 | 13,79 | 13,76 | $^{n}/_{5}$-Barytlauge; Phenolphthaleintitrierung bis zu schwach bzw. stark roter Farbe |
| 0,3501 | 10,41 | 10,40 | |
| 0,3866 | 11,49 | 11,50 | |
| 0,3364 | 10,00 | 10,00 | |

Herrn A. C. Andersen, der an der Ausführung dieser Arbeit in geschickter Weise teilgenommen hat, statte ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank ab.

Oktober 1907.

# Quantitative Studien über Phagocytose.

## Zweite Mitteilung.

### Einfluß von Wasserentziehung.

Von

**H. J. Hamburger und E. Hekma.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

*(Eingegangen am 14. Oktober 1907.)*

Im vorigen Aufsatz[1]) haben wir den Einfluß von Wasserzusatz auf die Phagocytose studiert. Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Frage, inwieweit Wasserentziehung dieselbe beeinflußt.

Um den Phagocyten Wasser zu entziehen, lag es nahe, dieselben der Einwirkung von eingeengtem Serum auszusetzen. Diese Methode jedoch hat große Schwierigkeiten, weil mit der Einengung der im Serum vorhandenen Salzlösung eine Steigerung des Prozentgehalts an Eiweiß einhergeht, und diese veranlaßt ein so erhebliches Zusammenkleben der Leukocyten, daß es oft sehr schwer fällt zu konstatieren, inwieweit jede einzelne Leukocyt Kohle aufgenommen hat. Es schien also erwünscht, sich vom belästigenden Einfluß des Eiweißes zu befreien. Es wäre dies zu erzielen gewesen mittels Filtration des Serums durch ein Tonfilter, wie es Starling vor einigen Jahren zu einem andern Zwecke bereits getan hat[2]). Nachher könnte dann die auf diese Weise erhaltene eiweißfreie Flüssigkeit eingeengt werden. Wir konnten aber von diesem etwas umständlichen und auch einen hohen Filtrationsdruck (30—40 Atmosphären) erfordernden Verfahren absehen, nachdem es sich gelegentlich anderer Untersuchungen, über die in der folgenden Mitteilung näher die Rede sein wird, in ganz unerwarteter Weise herausgestellt hatte, daß in einer

---

[1]) Diese Zeitschr. **3**, 88, 1907.

[2]) Starling, Journ. of Physiol. **24**, 317, 1899.

reinen 0,9prozentigen Kochsalzlösung die Phagocytose in fast genau demselben Grade vor sich geht wie im normalen Blutserum.

Dadurch war das Problem sehr vereinfacht, und hatten wir nur zu untersuchen, inwieweit Steigerung der Kochsalzkonzentration den Grad der Phagocytose beeinflußt.

Über die Einzelheiten der Methode können wir uns kurz fassen. Nur möchten wir bemerken, daß die Einwirkung konzentrierter Kochsalzlösung auf die Leukocyten folgenderweise erzielt wurde: Nachdem auf die in der vorigen Arbeit beschriebene Methode (l. c. S. 89ff.) eine Suspension von Leukocyten im Serum erhalten war, wurden gleiche Volumina abgemessen und in Röhrchen vorsichtig zentrifugiert. Dann wurde das klare Serum abgegossen und durch 3 ccm der verschiedenen Salzlösungen ersetzt. Nach sorgfältiger Vermischung der Bodensätze mit den Salzlösungen wurde wieder zentrifugiert, die klare Lösung abgegossen und an ihrer Reihe von 3 ccm einer neuen NaCl-Lösung ersetzt. Abermals vermischen, zentrifugieren, die klare Flüssigkeit abheben und für das dritte Mal durch 3 ccm der NaCl-Lösung ersetzen, und man hatte eine Aufschwemmung der Leukocyten in der zu untersuchenden Salzlösung, von der man jetzt wohl annehmen konnte, daß sie keine Serumbestandteile mehr enthielt. Die Hinzufügung von Kohle und das weitere Versuchsverfahren erfolgte ganz genau wie früher (l. c. S. 92ff.) beschrieben wurde.

## I. Einfluß hyperisotonischer NaCl-Lösungen auf die Phagocytose.

Es wurden aus einer 2prozentigen Kochsalzlösung folgende NaCl-Lösungen angefertigt: 0,9%, 1,225%, 1,45%, 1,656%, 1,725%, 1,862%. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht der Versuchsergebnisse.

Tabelle I.

Einfluß von hyperisotonischen Kochsalzlösungen.

| Kochsalzlösung | Totalanzahl der untersuchten Leukocyten | Anzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 0,9 % | 724 | 227 | 31 % |
| 1,22 | 818 | 56 | 6,68 |
| 1,45 | 300 | 0 | 0 |
| 1,656 | 240 | 0 | 0 |
| 1,725 | 200 | 0 | 0 |
| 1,862 | 180 | 0 | 0 |
| 2 | 180 | 0 | 0 |

Man ersieht, daß bereits durch eine relativ geringe Steigerung der Kochsalzkonzentration über die 0,9-prozentige hinaus die Prozentzahl der kohlehaltigen Leukocyten bedeutend abgenommen hat. Durch eine Steigerung von NaCl 0,9% auf 1,225% ist die Phagocytose hinabgesunken von 31% zu 6,68%. Bei fortgesetzter Steigerung auf NaCl 1,45% ist gar keine Phagocytose mehr zu beobachten.

Es wurde jetzt der Versuch wiederholt, jedoch mit der Abänderung, daß die Konzentrationssteigerung der NaCl-Lösungen weniger rasch vor sich ging.

Tabelle II.

Einfluß von hyperisotonischen Kochsalzlösungen.

| Kochsalzlösung | Totalanzahl der untersuchten Leukocyten | Anzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|
| 0,9 % | 722 | 250 | 34,6 % |
| 0,95 | 875 | 293 | 33,5 |
| 1 | 802 | 95 | 11,84 |
| 1,1 | 981 | 105 | 10,8 |
| 1,2 | 990 | 7 | 0,7 |
| 1,3 | 200 | 0 | 0 |
| 1,4 | 150 | 0 | 0 |
| 1,6 | 150 | 0 | 0 |

Die überraschend schnelle Abnahme der Phagocytose, die man in der ersten Versuchsreihe beobachtet, wird also in der zweiten bestätigt. Bereits durch eine Steigerung der Kochsalzkonzentration von 0,9 zu 1% findet eine ganz erhebliche Verringerung der Phagocytose statt: Sie sinkt von 34,6% auf 11,84%, d. i. um 65,7%; und wie die mikroskopische Beobachtung lehrt, bezieht sich diese Verringerung nicht nur auf die Zahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben, sondern sie kommt auch sehr deutlich zum Ausdruck in der Kohlenmenge, welche die einzelnen Leukocyten sich bemeistert haben. Diese Menge ist in einer 1 prozentigen NaCl-Lösung weit geringer als in einer 0,9 prozentigen.

In einer 1,2 prozentigen Kochsalzlösung ist die Phagocytose fast zu Null hinabgedrückt.

Es schien jetzt nützlich zu untersuchen, ob Zusatz von NaCl zu dem Serum ebenso eine Verringerung der Phagocytose herbeiführen würde, wie die entsprechende NaCl-Lösung das gezeigt hatte.

Es wurden also in Serum gelöst: 0,1%, 0,2%, 0,3% und 0,4% NaCl. Die also erhaltenen Flüssigkeiten entsprachen somit NaCl-Lösung von (0,9 + 0,1 =) 1%, 1,1%, 1,2% und 1,3%.

Die folgende Tabelle enthält die Resultate der Versuche mit kochsalzreichem Serum.

Tabelle III.

Einfluß von hyperisotonischem Serum.

| In 100 ccm Pferdeserum sind aufgelöst worden | Die Lösungen der vorigen Spalte entsprechen NaCl-Lösungen von | Anzahl der untersuchten Leukocyten | Anzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|---|
| 0 g NaCl | 0,9 % | 832 | 208 | **26** %[1] |
| 0,1 " | 1 | 874 | 184 | 21,5 |
| 0,2 " | 1,1 | 1005 | 184 | 18,3 |
| 0,3 " | 1,2 | 941 | 76 | 8 |
| 0,4 " | 1,3 | 793 | 43 | 5,4 |

Auch Zugabe von NaCl zu dem Serum führt Abnahme der Phagocytose herbei. Vergleicht man weiter das Resultat dieser Versuchsreihe mit dem von Tabelle II, so erhellt aber, daß Zugabe von NaCl zum Serum nicht in so erheblichem Grade Abnahme der Phagocytose herbeiführt, wie das der Fall ist, wenn man sich die entsprechenden NaCl-Mengen statt zum Serum, zur 0,9 prozentigen NaCl-Lösung hinzugesetzt denkt.

Wie ersichtlich, beträgt z. B. im Serum, dem 0,1% NaCl hinzugesetzt worden ist, die Abnahme der Phagocytose $\frac{26-21{,}5}{26} \times 100 = 17{,}3\%$, während Hinzufügung von 0,1% NaCl zu NaCl

[1]) Daß im normalen Serum der Grad der Phagocytose hier 26% beträgt, in anderen Versuchen mehr und in noch anderen weniger, rührt daher, daß bei der Anfertigung der Leukocytenaufschwemmung die prozentische Phagocytenzahl jedesmal eine andere ist. Teilweise hängt diese wohl mit der Kraft und der Zeitdauer des Defibrinierens zusammen, wodurch verschiedenartige Leukocyten zugrunde gehen und nicht immer in genau demselben Verhältnis. Außerdem haben die Leukocyten eine verschiedene Senkungsgeschwindigkeit, die Phagocyten im allgemeinen die größte. Wenn man also ein wenig zu lange wartet mit dem Abheben der Leukocytenaufschwemmung von der Erythrocytenschicht, so hat sich auf dieselbe ein weißer Belag abgesetzt, der hauptsächlich aus Phagocyten besteht und schwer zu entfernen ist. Die obenstehende Suspension enthält dann eine relativ geringe Menge Phagocyten.

0,9% eine Abnahme von 65% herbeiführte. Im Serum, dem 0,3% NaCl hinzugesetzt worden ist, und das also etwa einer 1,2prozentigen NaCl-Lösung entspricht, beträgt die Phagocytose 8%, während in einer 1,2prozentigen NaCl-Lösung selbst die Phagocytose nur 0,7% beträgt.

Es mögen hier behufs derselben Frage noch zwei Versuchsreihen folgen: Die eine Versuchsreihe wurde mit reinen Kochsalzlösungen, die zweite mit den entsprechenden Serum-NaCl-Gemischen ausgeführt. Es wurde aber für die beiden Versuchsreihen nicht dasselbe Blut gebraucht. Es geht das nicht, weil jede Versuchsreihe zuviel Zeit in Anspruch nimmt.

### Tabelle IV.

Einfluß von hyperisotonischen Kochsalzlösungen.

| Kochsalzlösungen | Anzahl der untersuchten Leukocyten | Anzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentgehalt der Leukocyten, welche Kohle aufnommen haben |
|---|---|---|---|
| 0,9 % | 650 | 428 | **65,8 %** |
| 1,2 | 633 | 206 | 32,6 |
| 1,3 | 623 | 145 | 23.3 |
| 1,4 | 890 | 19 | 2,2 |
| 1,5 | 200 | 0 | 0 |

### Tabelle V.

Einfluß von hyperisotonischem Serum.

| In 100 ccm Pferdeserum sind aufgelöst worden | Die Lösungen der vorigen Spalte entsprechen NaCl-Lösungen von | Anzahl der untersuchten Leukocyten | Anzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben |
|---|---|---|---|---|
| 0 g NaCl | 0,9 % | 595 | 294 | **50 %** |
| 0,3 " | 1,2 | 616 | 166 | 27 |
| 0,4 " | 1,3 | 790 | 172 | 22 |
| 0,5 " | 1.4 | 694 | 102 | 14,7 |
| 0.6 " | 1,5 | | | 5 |
| 0,7 " | 1,6 | | | 2 |
| 0,8 " | 1,7 | | | 0 |

Vergleicht man die beiden Tabellen IV und V, so stellt sich heraus, daß, wenn es sich um reine NaCl-Lösungen handelt (Tab. IV) die Zunahme des osmotischen Drucks eine bedeutendere Verringerung des phagocytären Vermögens herbeiführt, wie wenn es

sich um mit der entsprechenden Salzmenge bereichertes Serum handelt (Tab. V). So z. B. hat das phagocytäre Vermögen in einer 1,2 prozentigen NaCl-Lösung um $\frac{65,8 - 32,6}{65,8} \times 100 = 50,5\%$ abgenommen, während im Serum desselben osmotischen Drucks das phagocytäre Vermögen nur um $\frac{50 - 27}{50} = 46\%$ abgenommen hat. In der 1,3 prozentigen NaCl-Lösung beträgt die Abnahme $\frac{65,8 - 23,3}{65,8} \times 100 = 64,6\%$, in dem entsprechenden mit NaCl berechneten Serum $\frac{50 - 22}{50} \times 100 = 56\%$.

Nun könnte man gegen diese Schlußfolgerung einwenden, daß der osmotische Druck von Serum, von dem auf 100 ccm 0,4 g NaCl hinzugesetzt worden ist, weniger beträgt als der osmotische Druck einer 0,9 + 0,4 (= 1,3) prozentigen NaCl-Lösung.

Haben ja die Untersuchungen von Bugarszky und Tangl[1]) gelehrt, daß die Nicht-Elektrolyten des Serums die Dissoziation von dessen Elektrolyten bedeutend herabsetzen.

Andererseits aber haben Bugarszky und Liebermann[2]) gefunden, daß Eiereiweiß, einer wässerigen Salzlösung zugesetzt, den Gefrierpunkt genau um so viel erniedrigt, wie es dies, seiner eigenen osmotischen Konzentration entsprechend, in einer salzfreien wässerigen Lösung bewirken würde; daß es somit auf die osmotische Konzentration des betreffenden Salzes keinen Einfluß ausübt.

Auch die jüngsten Untersuchungen von Latkowski[3]) mit Gemischen von Eiereiweiß und Salz und von Serumeiweiß mit Salz führen zu letzterer Schlußfolgerung.

Man würde also geneigt sein, die Ansicht von Bugarszky und Tangl, an die der eine von uns sich früher[4]) auch auf Grund der Meinung von Arrhenius und auf Grund eigener Forschungen über die Beeinträchtigung, welche die Anwesenheit von Harnstoff

---

[1]) Bugarszky und Tangl, Pflügers Archiv f. Physiol. **72**, 531, 1898.

[2]) Bugarszky und Liebermann, Pflügers Archiv f. Physiol. **72**, 51, 1898.

[3]) Latkowski, Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie. Mai 1906.

[4]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre **1**, 475.

in Salzlösungen auf deren Gefrierpunkt ausübt, angeschlossen hatte, in Abrede zu stellen, um so mehr, weil deren Resultate auf indirektem Wege abgeleitet wurden.

Mit Rücksicht auf diesen Widerspruch haben wir auf anderem Wege den osmotischen Druck von Serum, Serum + 0,1% NaCl, Serum + 0,2% NaCl und Serum + 0,3% NaCl mit dem osmotischen Druck von NaCl 0,9%, 1%, 1,1% und 1,2% verglichen, und zwar mittels des Volums, das diese Lösungen derselben Menge an roten Blutkörperchen erteilen. Zu diesem Zweck wurde in die Trichterröhrchen (0,04 ccm)[1]) je 2 ccm der genannten Lösungen pipettiert und diese mit je 0,08 ccm Pferdeblut versetzt. Nachdem die durcheinandergeschüttelten Gemische eine halbe Stunde sich selbst überlassen gewesen waren, wurden sie zum konstanten Volum zentrifugiert und die Volumina der Sedimente abgelesen.

| Volumen des Sedimentes | | Volumen des Sedimentes | |
|---|---|---|---|
| in Serum | 89 | in NaCl 0,9% | 90 |
| „ „ + 0,1% NaCl | 85 | „ „ 0,9 + 0,1% NaCl | 86 |
| „ „ + 0,2 „ | 81,2 | „ „ 0,9 + 0,2 „ | 80,5 |
| „ „ + 0,3 „ | 78 | „ „ 0,9 + 0,3 „ | 76 |
| „ „ + 0,4 „ | 75 | „ „ 0,9 + 0,4 „ | 72 |

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß Hinzufügung von NaCl zum Serum eine geringere Volumsabnahme der Blutkörperchen herbeiführt als Hinzufügung der gleichen NaCl-Menge zu der 0,9prozentigen Kochsalzlösung. Aber die Unterschiede sind doch nicht so groß, daß sie für die Differenzen im phagocytären Vermögen, welche bei Vergleichung von Tabellen II und III zum Ausdruck kommen, verantwortlich gemacht werden dürfen; wohl dürfte das der Fall sein für die Differenzen zwischen Tabelle IV und V.

## II. Kann das durch hyperisotonische Lösungen herabgesetzte phagocytäre Vermögen wieder hergestellt werden?

Um diese Frage zu beantworten, wurden die Leukocyten, nachdem dieselben verschiedenen hyperisotonischen Lösungen ausgesetzt gewesen waren, in eine 0,9prozentige NaCl-Lösung zurückgebracht.

[1]) Hamburger, diese Zeitschr. **1**, 263, 1906.

Zunächst wurden als hyperisotonische Lösungen Kochsalzsolutionen von 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4% und 1,5% genommen. Darin verblieben die Leukocyten eine halbe Stunde, um dann in NaCl 0,9 % hinübergebracht, ausgewaschen und untersucht zu werden.

Zur Kontrolle wurde daneben der Grad der Phagocytose, eines Teils der ursprünglichen Aufschwemmung ermittelt, welche nur mit NaCl 0,9% behandelt worden war, und zwar gleichzeitig ausgewaschen und zentrifugiert wie diejenigen Teile der Aufschwemmung, die dem Einflusse der genannten NaCl-Lösungen ausgesetzt gewesen waren. Es wurde auf diese Weise verfahren, um den etwaigen Einfluß des Auswaschens und des Zentrifugierens bei dem Vergleich zu eliminieren.

### Tabelle VI.

Wiederherstellung des phagocytären Vermögens.

| Kochsalzlösungen | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | |
|---|---|---|
| | Die Phagocyten liegen in der in der vorigen Spalte angewiesenen NaCl-Lösung | Nach Zurückbringung in NaCl 0,9 % |
| 0,9 % | $\frac{300}{668} \times 100 = $ **44,7 %** | |
| 1,0 | $\frac{186}{603} \times 100 = 30{,}9$ | $\frac{302}{720} \times 100 = 42$ % |
| 1,1 | $\frac{161}{690} \times 100 = 23{,}2$ | $\frac{265}{682} \times 100 = 37{,}4$ |
| 1,2 | $\frac{54}{633} \times 100 = 8{,}5$ | $\frac{271}{750} \times 100 = 36$ |
| 1,3 | Nahezu 0 | $\frac{205}{642} \times 100 = 32$ |
| 1,4 | = 0 | $\frac{246}{862} \times 100 = 28{,}5$ |
| 1,6 | = 0 | $\frac{80}{220} \times 100 = 27{,}4$ |

Aus diesen Versuchsresultaten erhellt:

1. *Daß die aus der 1prozentigen NaCl-Lösung stammenden und also in ihrem phagocytären Vermögen beeinträchtigten Leukocyten nach Zurückführung in eine 0,9prozentige NaCl-Lösung das ursprüngliche phagocytäre Vermögen zwar nicht vollständig, aber*

doch nahezu zurückgewonnen haben. War doch der Prozentgehalt der Kohle enthaltenden Phagocyten, welcher durch Überbringung aus 0,9- in 1 prozentige NaCl-Lösung von 44,7% zu 30,9% abgenommen hatte, nach Zurückführung in eine 0,9 prozentige Kochsalzlösung wieder angestiegen zu 42% (statt zu 44,7%).

2. Je konzentrierter die Lösungen waren, in denen die Leukocyten verweilt hatten, desto größer war die bleibende Schädigung.

So z. B. stellt sich heraus, daß, nachdem die Leukocyten in NaCl-Lösungen von 1,3%, 1,4% und 1,6% gelegen haben, wodurch die Phagocytose vollständig aufgehoben wurde, dieselbe nach Zurückführung der Leukocyten in NaCl 0,9%, die Phagocytose sich mehr als zur Hälfte des ursprünglichen Wertes wieder herstellt.

Die folgende Versuchsreihe bildet eine Wiederholung der vorigen. Nur sind jetzt noch konzentriertere NaCl-Lösungen als von 1,6% angewandt worden. Außerdem haben die betreffenden NaCl-Lösungen nicht wie in der vorigen Versuchsreihe eine halbe Stunde, sondern zwei Stunden auf die Leukocyten eingewirkt, bevor sie in die 0,9 prozentige zurückgebracht wurden.

Tabelle VII.

| Kochsalzlösungen | Prozentzahl der Leukocyten, welche Kohle aufgenommen haben | |
|---|---|---|
| | Die Phagocyten liegen in der in der vorigen Spalte angewiesenen NaCl-Lösung | Nach Transport in NaCl 0,9 % |
| 0,9 % | $\frac{315}{734} \times 100 = \mathbf{43}\ \%$ | |
| 1,6 | 0 (Keine einzige Leukocyte hat Kohle aufgenommen) | $\frac{418}{640} \times 100 = 34\ \%$ |
| 1,7 | 0 | $\frac{192}{552} \times 100 = 34{,}8$ |
| 1,8 | 0 | $\frac{200}{720} \times 100 = 27{,}5$ |
| 1,9 | 0 | $\frac{145}{600} \times 100 = 24$ |
| 2 | 0 | $\frac{155}{673} \times 100 = 23$ |

Aus diesem Versuche geht hervor, daß nach zweistündiger Einwirkung eine 2 prozentige NaCl-Lösung das vollständig ge-

lähmte phagocytäre Vermögen nach Überführung der Leukocyten in eine 0,9 prozentige Kochsalzlösung noch bei der Hälfte der Phagocyten zurückkehrt. Auf die Bedeutung der hier gefundenen Tatsachen für die Kenntnis des Einflusses, den hyperisotonische Lösungen auf die Phagocytose ausüben, kommen wir noch zurück.

Wir wollen erst die Frage beantworten, inwieweit das phagocytäre Vermögen der im hyperisotonischen Serum verweilt habenden Leukocyten nach Zurückführung derselben in das normale Serum wieder zurückkehrt.

### Tabelle VIII.

Wiederherstellung des phagocytären Vermögens.

| Normales und mit Salz versetztes Serum, in dem die Leukocyten ½ Stunde verweilten | Nach Zurückführung in normales Serum beträgt das phagocytäre Vermögen |
|---|---|
| Normales Serum | $\frac{273}{700} \times 100 = \mathbf{39}$ % |
| 100 ccm Serum + 0,2 g NaCl | $\frac{246}{641} \times 100 = 38{,}4$ |
| 100 „ „ + 0,7 „ | $\frac{226}{685} \times 100 = 33$ |
| 100 „ „ + 1,2 „ | $\frac{170}{567} \times 100 = 30$ |
| 100 „ „ + 1,5 „ | $\frac{149}{713} \times 100 = 21$ |
| 100 „ „ + 2 „ | $\frac{87}{625} \times 100 = 14$ |
| 100 „ „ + 3 „ | $\frac{57}{590} \times 100 = 9$ |

Diese Versuche zeigen, daß nach einer Steigerung des osmotischen Drucks, welche das Serum zu einer 1,1 prozentiger NaCl-Lösung entsprechenden Flüssigkeit macht, einer Flüssigkeit also, welche nach früheren Versuchen nach einer halbstündigen Einwirkung das phagocytäre Vermögen um $\frac{26 - 18{,}3}{26} \times 100 = 29{,}5\%$ (vgl. Tab. III) vermindert, diese Herabsetzung nach Zurückbringung der Leukocyten in normales Serum vollständig wieder verschwindet.

Einwirkung eines konzentrierteren Serums (isosmotisch mit

NaCl 1,6%, 2,1%, 2,4%, 2,9% und 3,9%) führt eine bleibende Verringerung des phagocytären Vermögens herbei.

Indessen kommen im normalen oder kranken Leben solche erhebliche Steigerungen der osmotischen Konzentration des Serums nicht vor. Eine Steigerung der osmotischen Konzentration des Serums zu NaCl 1,1%, welche einer Gefrierpunktserniedrigung von etwa 0,685° entspricht, dürfte wohl zu einer maximalen gerechnet werden.

Dieses Versuchsergebnis hat eine praktische Bedeutung, insbesondere wenn daneben das Ergebnis von Tabelle III in Betracht gezogen wird. In dieser Tabelle stellt sich heraus, daß bereits durch Steigerung der osmotischen Konzentration mit einem Wert von 0,1% NaCl (Gefrierpunktserniedrigung von 0,0056°), eine Steigerung, welche im normalen Leben täglich vorkommen kann[1]), das phagocytäre Vermögen in bedeutendem Grade abnimmt. Aus der Tabelle VIII geht hervor, daß diese Abnahme, ja selbst eine noch größere, wieder ausgeglichen wird, sobald das Serum die normale osmotische Konzentration wieder erreicht hat.

Es läßt sich hier die weitere Frage anschließen, ob die vollständige Wiederherstellung des phagocytären Vermögens auch noch stattfindet, nachdem die Leukocyten mehrere Stunden mit dem konzentriert gemachten Serum in Berührung gewesen sind. Bei der Beantwortung dieser Frage standen wir aber vor einer Schwierigkeit. Diese bestand darin, daß auch in vollkommen normalem Serum das phagocytäre Vermögen allmählich abnimmt, am ersten Tage langsam und am zweiten, dritten, vierten Tage immer schneller.

Unter diesen Umständen blieb nichts anderes übrig, als neben den geplanten Experimenten Parallelversuche anzustellen, welche bezweckten, die Abnahme der Phagocytose zu ermitteln, für Leukocyten, welche während derselben Zeitperiode im normalen Serum verweilt hatten.

Also wurde folgenderweise experimentiert: Es wurde eine Suspension von Leukocyten in Serum angefertigt, dem 0,1% NaCl hinzugefügt worden war. Dieses Serum besitzt eine Gefrier-

---

[1]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre **1**, 540ff.: **2**, 279 u. 310.

punkterniedrigung von $-0{,}62°$ statt der normalen $-0{,}56°$. Wie in Tabelle III ausgeführt wurde, veranlaßt dieses Serum eine Abnahme des phagocytären Vermögens von $\frac{26-21{,}5}{26} \times 100 = 17\%$. Diese Suspension wurde in drei Teile geteilt. Der erste Teil wurde zwei Stunden sich selbst überlassen, der zweite Teil 17 Stunden und der dritte Teil 41 Stunden. In allen drei Fällen wurden die Leukocyten in normales Serum zurückgebracht und dann deren phagocytäres Vermögen untersucht. Daneben wurde dann das phagocytäre Vermögen untersucht von Leukocyten, welche dieselben Einwirkungen erfahren hatten, jedoch stets mit normalem Serum. Die folgende Tabelle (IX) wird wohl ohne weitere Erläuterung deutlich sein.

Tabelle IX.

| Zeit, während welcher die Leukocyten im Gemisch von Serum + 0,1 % NaCl-Lösung verweilten | Nach Zurückbringen in normales Serum beträgt die Prozentzahl der kohlehaltigen Leukozyten | Nach Verweilen im normalen Serum während der in der ersten Spalte angegebenen Zeiten beträgt die Prozentzahl der kohlehaltigen Leukozyten |
|---|---|---|
| 2 Stunden | $\frac{226}{754} \times 100 = 30\%$ | $\frac{202}{662} \times 100 = 30{,}5\%$ |
| 17 " | $\frac{164}{685} \times 100 = 24$ | $\frac{164}{631} \times 100 = 26$ |
| 41 " | $\frac{47}{590} \times 100 = 8$ | $\frac{43}{610} \times 100 = 7$ |

Aus der zweiten Spalte erhellt, daß je länger das hyperisotonische Serum auf die Leukocyten eingewirkt hat, desto größer die bleibende Abnahme des phagocytären Vermögens sich zu gestalten scheint. Jedoch lehrt die dritte Spalte, daß im normalen Serum nach denselben Zeiten ebenfalls eine Abnahme stattfindet, und zwar ist diese Abnahme von gleicher Größe.

Hieraus geht hervor, daß auch nach längerem Verweilen der Phagocyten in einem hyperisotonischen Serum die Schädigung oder Lähmung des phagocytären Vermögens ebensowenig eine bleibende ist, mit anderen Worten ebensogut rückgängig gemacht werden kann wie nach kürzerem Verweilen (Tabelle VIII).

Der hier erwähnte Versuch bezieht sich auf Leukocyten, die erst einen Tag, nachdem das Blut entlastet worden war, verarbeitet wurden.

Wir führen jetzt noch einen Versuch an, in dem die betreffende Zeit viel kürzer war. Auch sind hier zwei Gemische geprüft worden, nämlich außer Serum + 0,1% NaCl auch Serum + 0,2% NaCl. Nur war, wie man ersehen wird, die Leukocytensuspension hier weniger phagocytenreich wie in Versuch IX.

Tabelle X.

| Zeit, während welcher die Leukocyten in den zu untersuchenden Flüssigkeiten verweilten | Flüssigkeiten | Phagocytäres Vermögen nach der in Spalte 1 angezeigten Zeitdauer | Nach Zurückbringen in normales Serum beträgt das phagocytäre Vermögen, m. a. W., die Prozentzahl der kohlehaltigen Leukocyten | Nach Verweilen im normalen Serum während der in der ersten Spalte angegebenen Zeiten, beträgt die Prozentzahl der kohlehaltigen Leukocyten |
|---|---|---|---|---|
| 18 Stunden | Serum + 0,1 % NaCl | $\frac{96}{708} \times 100 = 13{,}6\,\%$ | $\frac{160}{885} \times 100 = 18\ \%$ | $\frac{128}{684} \times 100 =$ **18,7 %** |
| | Serum + 0,2 „ | $\frac{90}{820} \times 100 = 10$ | $\frac{127}{757} \times 100 = 16{,}9$ | |
| 42 Stunden | Serum + 0,1 „ | $\frac{52}{550} \times 100 = 9{,}5$ | $\frac{93}{780} \times 100 = 11{,}9$ | $\frac{76}{618} \times 100 =$ **12,3** |
| | Serum + 0,2 „ | $\frac{53}{725} \times 100 = 7{,}3$ | $\frac{75}{682} \times 100 = 11$ | |

Wie ersichtlich, hat also bei einer 18—42stündigen Einwirkung der Zusatz von 0,1% NaCl zum Serum der Phagocytose nicht geschadet. Die schädliche Wirkung eines größeren NaCl-Zusatzes aber, nämlich von 0,2%, wird schon bemerkbar.

Man darf also schließen, daß bereits ein geringfügiger, innerhalb physiologischer Grenzen täglich vorkommender gesteigerter Zustand der osmotischen Konzentration des Serums eine nicht unbedeutende Abnahme des phagocytären Vermögens herbeiführt; daß aber nach Wiederherstellung des normalen osmotischen Drucks das phagocytäre Vermögen wieder zur Norm zurückkehrt, auch wenn der gesteigerte Zustand einige Stunden angehalten hat.

In der ersten Mitteilung konnten wir Gleiches konstatieren bezüglich geringfügiger, innerhalb der physiologischen Grenzen sich bewegender Abnahmen der osmotischen Konzentration. Auch diese hatten eine bedeutende Verringerung der Phagocytose zur Folge, welche sich aber nach Zurückkehr der Leukocyten in normales Serum vollständig wiederherstellte.

## Zusammmenfassung.

I. Steigerung der osmotischen Konzentration des Blutserums macht sich in sehr nachteiliger Weise auf das phagocytäre Vermögen geltend, und zwar erweist sich hier die nachteilige Wirkung noch bedeutender, als wenn die osmotische Konzentration in entsprechendem Grade herabgesetzt wird.

Bereits Hinzufügung von 0,1% NaCl zum Serum, eine Zunahme, welche bekanntlich beim normalen Menschen jeden Tag vorkommen kann, hatte eine Herabsetzung des phagocytären Vermögens von 17,3% zur Folge.

Durch Hinzufügung von 0,4% NaCl wurde eine Verringerung der Phagocytose von 79,2% herbeigeführt, während Zusatz von 0,5% NaCl zum Serum die Phagocytose auf Null reduzierte. Diese Abnahmen waren jedoch nicht bleibender Natur, denn:

II. Durch Zurückführung der durch Kochsalzzusatz in nachteiliger Weise beeinflußten Zellen in ihr eigenes normales Serum kehrte das phagocytäre Vermögen wieder ganz oder teilweise zurück.

Vollständig war die Rückkehr, wenn das Serum mit 0,1 bis 0,2% NaCl, teilweise, wenn dasselbe mit mehr NaCl versetzt worden war. Ja selbst, wenn man 2% NaCl zum Serum hinzugefügt hatte, ein Zusatz, durch den die Phagocytose ganz aufgehoben war, konnte noch eine Wiederherstellung des phagocytären Vermögens zu mehr als der Hälfte des ursprünglichen wahrgenommen werden (Tab. VIII).

III. Ist also, wie aus den Versuchen über den Einfluß der Steigerung der osmotischen Konzentration (vgl. sub. II), wie auch über den der Herabsetzung (vgl. erste Mitteilung) hervorgeht, das phagocytäre Vermögen in hohem Maße empfindlich für jede Abänderung der normalen osmotischen Konzentration der Blutflüssigkeit, so lehren doch die weiteren Experimente, daß, sobald das Blutplasma, insbesondere infolge der Nierentätigkeit, den normalen osmotischen Druck zurückgewonnen hat, auch das phagocytäre Vermögen sich ganz wieder herstellt. Nach diesen Experimenten zeigt sich die Wiederherstellung selbst noch möglich, nachdem das anisotonische Serum während 24 Stunden und länger auf die Leukocyten eingewirkt hat.

IV. In NaCl-Lösung von 0,9% besitzt das phagocytäre Vermögen fast dieselbe Größe wie im Serum. Unter dem Einfluß von schwächeren und stärkeren NaCl-Lösungen nimmt dasselbe bedeutend ab, selbst noch bedeutender als im damit isosmotisch gemachten Serum.

V. Die sub IV erwähnten Tatsachen berechtigen zur Schlußfolgerung, daß die durch Anisotonie des Serums herbeigeführte Abnahme des phagocytären Vermögens **größtenteils** dem geänderten Wassergehalt der Zellen zugeschrieben werden muß.

In der nächsten Mitteilung wird von den andern Faktoren, welche bei dieser Abnahme eine Rolle spielen, die Rede sein.

---

# Über Chitin.

Von

**Th. R. Offer.**

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung, Wien.)

*(Eingegangen am 17. Oktober 1907.)*

Das Chitin und die Stellung desselben zu seinen Abbauprodukten, dem Chitosan und dem Glucosamin, hält immer noch das Interesse der biologischen und physiologisch-chemischen Forschung wach, denn es ist bisher noch nicht gelungen, einfache Zwischenprodukte zu erhalten, aus welchen sich ein klares Bild über den Aufbau und die chemische Individualität des Chitins gewinnen ließe.

Araki[1]) gibt für das Chitin folgende Formel an:

$$C_{18}H_{30}N_2O_{12}$$

und erklärt den Abbau des Chitins zum Chitosan auf folgende Weise: Ein Molekül Chitin geht unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser in Chitosan über und verliert hierbei zwei Acetylgruppen.

$$C_{18}H_{30}N_2O_{12} + 2\,H_2O = C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 2\,CH_3 \cdot COOH\,.$$

Durch weitere Abspaltung eines Essigsäureradikals bilden sich aus dem Chitosan zwei Moleküle Glucosamin:

$$C_{14}H_{26}NO_{10} + 2\,H_2O = 2\,C_6H_{13}NO_5 + CH_3 \cdot COOH\,.$$

Chitosan nannten Araki und Hoppe-Seyler eine Substanz, welche beim Behandeln von Chitin mit schmelzendem Kali erhalten wird als in Essigsäure löslicher, durch Alkalien fällbarer Körper.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 498.

Fränkel und Kelly[1]) kamen bei ihren Untersuchungen über die Konstitution des Chitins zu der Schlußfolgerung, daß sowohl das Chitin, als auch das Chitosan keineswegs die von Araki angenommene einfache Zusammensetzung besitzen, sondern vielmehr höher zusammengesetzte stickstoffhaltige, am Stickstoff acetylierte Polysaccharide sind, deren Analogie mit den Polysacchariden; Stärke und Glycogen sich auch in der Jodreaktion kundgibt, welche den tieferen Spaltungsprodukten, den Monosen und Biosen, fehlt.

Fränkel und Kelly ist es gelungen, durch Einwirkung von 70 prozentiger Schwefelsäure auf reines Chitin folgende Substanzen darzustellen:

1. Acetyl-Glucosamin — als letztes Spaltungsprodukt —, eine Verbindung, welche die Acetylgruppe enthielt, was durch Synthese der Verbindung bewiesen wurde. Daraus ergibt sich, daß die Grundsubstanz des Chitins ein am Stickstoff acetyliertes Glucosamin ist;

2. haben die beiden Forscher unter den Spaltungsprodukten bei der gleichen Hydrolyse ein höheres Derivat angetroffen, dessen Analysendurchschnitt mit der Formel:

$$C_{14}H_{22}N_2O_{10}$$

übereinstimmt, doch gelang eine völlige Reindarstellung damals nicht. Diese letztere Substanz, welche den Analysenwerten eines Monoacetyldiglucosamins entspricht und also die elementare Zusammensetzung von Arakis Chitosan hat, zeigte aber im Gegensatz zu Arakis Chitosan keine Jodreaktion.

Seit dieser Untersuchung haben sich nur noch von Fürth und Russo[2]) eingehend mit der Chemie des Chitins beschäftigt.

Diesen Forschern ist es gelungen, eine krystallinische Verbindung des amorphen Chitosans, und zwar „das chlor- und bromwasserstoffsaure Chitosan" darzustellen, und es ergibt sich aus den Analysen dieser Verbindungen, daß entgegen der von Araki aufgestellten Chitosanformel:

$$C_{14}H_{26}N_2O_{10}$$

das Fürthsche Chitosan je 2 N-Atomen entsprechend etwa 13 C-Atome, 26 H-Atome und 14 O-Atome enthalten dürfte.

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **23**, 123.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **8**, 163.

Das freie Chitosan verändert sich leicht unter Sauerstoffabgabe. Ferner sprechen von Fürth und Russo die Ansicht aus, daß das Molekül des Chitosans mindestens zweimal, vielleicht aber um ein vielfaches größer sei, als der Größenanordnung der Arakischen Formel entspricht, was gut mit den früheren Resultaten von Fränkel und Kelly, die auf anderem Wege gewonnen worden waren, übereinstimmt. Eine weitere Schlußfolgerung v. Fürth und Russos geht dahin, daß alle im Chitosanmolekül vorhandenen Glucosaminkomplexe acetyliert erscheinen, daß daneben noch eine kohlenstoffärmere acetylierte Stickstoffverbindung im Molekül vorkomme. Sie erhalten bei ihrer Bestimmung der Spaltungsprodukte des Chitosanchlorhydrates entsprechend je 1 Stickstoffatom, 1 Molekül Essigsäure (25%) und $^3/_4$ Molekül Glucosamin (60%). Bei unserer Untersuchung sind wir durch Darstellung reiner Substanzen, welche sehr gut stimmende Elementaranalysen ergaben und von sehr stabilem Charakter sind, zu einigermaßen anderen Resultaten gelangt, welche einen weiteren Schritt zur Erklärung des Aufbaues des Chitins durch Aufklärung der Zwischenstufen des Abbaues bedeuten.

## Experimenteller Teil.

Zu unseren Versuchen bedienten wir uns eines auf folgende Weise gereinigten Chitins: Die Hummernpanzer wurden von den sichtbar anhaftenden Fleischresten mechanisch gereinigt und diese gereinigten Stücke in verdünnte Salzsäure für mehrere Tage eingelegt. Die Salzsäure wurde immer wieder erneuert, solange sich noch Aufbrausen zeigte. Hierauf wurden die nun weich gewordenen Schalen in strömendes Wasser gegeben, um allen anhaftenden Gips zu entfernen. Dieses Reinigungsverfahren in fließendem Wasser dauerte einige Tage, dann wurden die Schalen mit verdünnter 10prozentiger Kalilauge, welche öfters gewechselt wurde, ausgekocht. Die Kalilauge wurde durch öfteres Auswässern möglichst entfernt und die nun fast farblosen, eiweißfreien Schalen wurden ausgepreßt und neuerdings in verdünnte Salzsäure gelegt. Um den letzten Rest des Farbstoffes zu entfernen, wurden die ausgepreßten Schalen mit einer verdünnten Permanganatlösung behandelt und mit einer verdünnten Lösung von Natriumbisulfit manganfrei gewaschen, dann ausgepreßt und mit destilliertem Wasser unter häufigem Wechseln desselben so lange

gewaschen, bis eine Probe abgedampft keinen Rückstand mehr zeigte. Die so gereinigten Hummern schalen waren blendend weiß, gaben keine Eiweißreaktion mehr. Ihr Aschegehalt war sehr gering.

Für die Analysen wurde das so vorbehandelte Rohchitin noch weiter mit siedendem destillierten Wasser nach dem Zerkleinern ausgelaugt, dann mit verdünntem und absolutem Alkohol siedend heiß und mit warmem Äther erschöpft.

### Elementaranalyse des reinen Chitins.

I. 0,3595 g gaben 0,0011 g feuerbeständige Asche, entsprechend 0,3% Asche,

0,1854 g „ 0,3082 g $CO_2$, entsprechend 45,34% C,
0,1163 g $H_2O$ „ 6,97% H.

0,1586 g gaben 10,11 ccm N bei t = 20,1°, b = 759, entsprechend 7,27% N.

II. 0,2076 g gaben 0,3461 g $CO_2$, entsprechend 45,47% C,
0,1279 g $H_2O$, „ 6,85% H.

0,2019 g gaben 12,65 ccm N bei t = 20,7° und b = 758,5, entsprechend 7,13% N.

Auf aschefreie Substanz berechnet:

| | I. | II. | Mittel |
|---|---|---|---|
| C | 45,47 % | 45,60% | 45,53% |
| H | 6,99 % | 6,86% | 6,92% |
| N | 7,29 % | 7,16% | 7,22% |

40 g dieses gereinigten Chitins wurden zerkleinert in 200 ccm einer 70prozentigen Schwefelsäure in der Kälte eingetragen und an einem kühlen Orte 24 Stunden stehen gelassen. Nach 24 Stunden war fast die ganze Menge des Chitins in Lösung gegangen und die Flüssigkeit nur schwach gelb gefärbt. Die schwefelsaure Lösung wurde durch Glaswolle von der ungelöst gebliebenen Substanz abfiltriert und das Filtrat mit der vierfachen Menge reinen Methylalkohols unter Kühlung versetzt.

Es entsteht ein voluminöser weißer Niederschlag, welcher sich ziemlich rasch absetzt. Der Niederschlag wurde auf dem Saugfilter abfiltriert und öfters mit reinem Methylalkohol durchgewaschen. Zum Schlusse wurde mit Äther gewaschen und der Niederschlag im Vakuum getrocknet.

Bei dieser Darstellung zeigte es sich, daß der Niederschlag noch eine beträchtliche Menge Schwefelsäure zurückhielt, weshalb er so lange mit heißem Wasser ausgekocht wurde, als noch eine dekantierte Probe mit Chlorbarium und Salzsäure einen Niederschlag gab. Es gelang nach öfterer Wiederholung dieser Prozedur, die Substanz von der Schwefelsäure zu befreien.

Die so gereinigte Substanz wurde wieder auf einem Saugfilter gesammelt, mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

## Polymeres Acetyldiglucosamin.

Die Substanz hat folgende Eigenschaften: Sie ist in Wasser und verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich, ferner unlöslich in Alkohol und Äther, sowohl in der Kälte als auch in der Wärme; in konzentrierter Schwefelsäure ist sie löslich. Sie ist amorph. Mit Jodkalium färbt sie sich leicht rötlichbraun an, auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure tritt eine mehr rotviolette Färbung ein. Die Substanz reduziert weder Fehlingsche Lösung, noch ammoniakalische Silberlösung; mit Phenylhydrazin reagiert sie nicht.

Die Elementaranalyse der bei 105° C getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0,2068 g gaben 0,3394 g $CO_2$, entsprechend 44,76% C,
0,1259 g $H_2O$, „ 6,81% H,
0,2121 g gaben 13,53 ccm N bei t = 22,7°; b = 759,
entsprechend 7,34% N,
0,1860 g gaben 0,3096 g $CO_2$, entsprechend 44,36% C,
0,1161 $H_2O$, „ 6,98% H,
0,1570 g gaben 9,79 ccm N bei t = 20,9°, b = 757,6,
entsprechend 7,25% N.

| Berechnet | | in % | gefunden |
|---|---|---|---|
| für $n(C_{14}H_{26}N_2O_{10})$ | | I. | II. |
| C | 43,98 | 44,76 | 44,36 |
| H | 6,80 | 6,81 | 6,98 |
| N | 7,32 | 7,34 | 7,25 |

Während die Wasserstoff- und Stickstoffwerte dieser Substanzen mit der Theorie sehr gut übereinstimmen, haben wir den Kohlenstoffwert im Durchschnitt um 0,5% höher gefunden;

wir sprechen diese Substanz deshalb als polymeres Acetyldiglucosamin an, weil wir — wie im folgenden beschrieben — das Acetyldiglucosamin selbst unter den weiteren Spaltungsprodukten gefunden und rein zur Analyse gebracht, und weil die eben beschriebene Substanz, wie alle Polysaccharide und das Chitin selbst, eine charakteristische Jodreaktion gibt, die den Monosen und Biosen bekanntlich fehlt.

---

Das Filtrat nach der Fällung mit Methylalkohol wurde hierauf in ähnlicher Weise verarbeitet, wie seinerzeit Fränkel und Kelly angegeben (l. c.).

Es wurde zunächst so lange feingepulvertes Ätzabryt zugesetzt, bis die Lösung nur mehr schwach blaue Reaktion auf Kongopapier gab. Der Rest der Säure wurde durch Eintragen von gepulvertem kohlensauren Barium gebunden.

Da sich das schwefelsaure Barium in der methylalkoholischen Lösung nicht abschied und auch nicht abfiltrieren ließ[1]), wurde die Flüssigkeit samt Niederschlag in einen Rundkolben gebracht und der Methylalkohol im Vakuum abdestilliert. Der zurückbleibende Brei wurde mit heißem Wasser versetzt und stehen gelassen, worauf sich das Bariumsulfat absetzte. In das Filtrat wurde Kohlensäure eingeleitet, und von dem sich bildenden Niederschlage wurde wieder abfiltriert. Eine Probe dieses Filtrates gab auf Zusatz von Schwefelsäure noch immer einen Niederschlag von Bariumsulfat, weshalb nach dem Einengen der Flüssigkeit im Vakuum auf ein Drittel des Volumens kohlensaures Ammon zugesetzt und die Flüssigkeit gerade bis zum Aufkochen erhitzt wurde (Fränkel und Kelly), wobei sich der noch gelöste Rest des Bariums abschied. Das klare Filtrat hiervon, welches nun frei von Barium (und auch Calcium[2])) war, wurde mit der vierfachen Menge Methylalkohol versetzt. Es fällt eine Substanz in sehr geringer Menge, welche zur weiteren Untersuchung nicht ausreichte. Das Filtrat von dem Niederschlage wurde mit dem halben Volumen Methylalkohol versetzt, wobei neuerlich eine Fällung entstand, von welcher wieder abfiltriert wurde.

---

[1]) Vgl. C. Neuberg und E. Neimann, Diese Zeitschr. 1, 166, 1906.

[2]) Es ist sehr schwer, aus Chitin den stets darin enthaltenen Gips völlig zu entfernen, und nur durch wiederholtes Auskochen mit viel destilliertem Wasser gelingt dieses.

Auch dieser Vorgang ergab nur eine geringe Fällung. Nun wurde so lange Äthylalkohol zugesetzt, bis das zugesetzte Quantum die Menge der methylalkoholischen Lösung erreicht hatte, also insgesamt das Volumen des zugesetzten absoluten Alkohols gleich der methylalkoholischen Lösung war. Es fiel nun eine größere Menge einer Substanz, welche einer weiteren Untersuchung unterworfen wurde.

### Monoacetyldiglucosamin.

Die Substanz löst sich leicht in kaltem Wasser, wenig in warmem Weingeist, fast gar nicht in absolutem Methylalkohol, weder in der Kälte, noch in der Wärme. Die frische Fällung, welche mehrmals mit Alkohol und Äther auf dem Filter gewaschen, dann im Vakuum getrocknet wurde, reduzierte wenig kräftig Fehlingsche Lösung. Da der Verdacht bestand, daß diese Reduktion durch eine anhaftende Verunreinigung bewirkt sei, wurde folgendes Reinigungsverfahren eingeschlagen haben:

Die Substanz wurde in wenig kaltem Wasser gelöst und hierauf mit so viel absolutem Methylalkohol versetzt, als noch Fällung auftrat. Die Fällung wurde nach dem Dekantieren des über ihr befindlichen Alkohols mit neuem absoluten Methylalkohol ausgekocht und hierauf auf einem Filter gesammelt, mit Methylalkohol und zum Schlusse mit Äther gewaschen. Dann wurde sie im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

Eine neuerlich angestellte Reduktionsprobe fiel völlig negativ aus. Diese Substanz ist anscheinend identisch mit der von Fränkel und Kelly seinerzeit gefundenen, aber nicht näher beschriebenen, welche schon diese Forscher als Monoacetyldiglucosamin angesprochen.

Die so gereinigte, bei 105° getrocknete Substanz ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0,1879 g gaben 0,3046 g $CO_2$, entsprechend 44,21% C,
0,1141 g $H_2O$, „ 6,80% H,
0,1580 g gaben 10,2 ccm N bei $t = 20,0$, $b = 756,1$,
entsprechend 7,48% N,
0,1881 g „ 0,3039 g $CO_2$, entsprechend 44,07% C,
0,1144 g $H_2O$, 6,80% H.

| Berechnet | | | in % gefunden | |
|---|---|---|---|---|
| für $C_{14}H_{26}N_2O_{10} = (C_{12}H_{23}N_2O_1)\ CH_3 \cdot OC$ . | | | I. | II. |
| | C | 43,98 | 44,21 | 44,07 |
| | H | 6,80 | 6,80 | 6,80 |
| | N | 7,32 | 7,48 | — |

Das Acetyldiglucosamin ist eine schneeweiße amorphe Substanz. Die wässerige Lösung reduziert nicht und reagiert nicht mit aromatischen Hydrazinen. Weder die feste Substanz noch ihre wässerige Lösung geben Jodreaktion. In der Capillare erhitzt, zeigt die Substanz bei 194° C Bräunung und gleichzeitig Zersetzung. Ein Schmelzen war nicht zu beobachten. Bei der Bestimmung der optischen Aktivität mit dem großen Landolt-Lippichschen Apparate wurde keine Drehung der Polarisationsebene bei Untersuchung einer 0,5prozentigen Lösung im 2 dm-Rohre beobachtet. Das Vorkommen einer racemischen Verbindung ist um so merkwürdiger, als bei derselben Reaktion Acetylmonoglucosamin erhalten wurde, welches, wie Fränkel und Kelly beschreiben, eine Drehung von $\alpha_D = +41,86°$ zeigte.

---

Als Spaltungsprodukte des Chitins wurde von verschiedenen Forschern isoliert:

1. Glucosamin (Ledderhose[1]). Die Konstitution dieser Substanz als $\alpha$-Aminoglucose wurde von E. Fischer und H. Leuchs[2]) bewiesen; man hat nach E. Fischer das Glucosamin zu betrachten als ein Derivat des Traubenzuckers oder der d-Mannose, in welcher das in der $\alpha$-Stellung befindliche Hydroxyl durch Amid ersetzt ist, sie geben ihm deshalb die Konfigurationsformel

$$\begin{array}{c} \quad\quad\quad\quad\quad\quad\ \ H\quad\ \ H\quad\ OH \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad\ \ |\quad\ \ \ |\quad\ \ | \\ CH_2(OH)-C-C-C-CH(NH_2)\ COH\ . \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad\ \ |\quad\ \ \ |\quad\ \ | \\ \quad\quad\quad\quad\quad\quad OH\ OH\ H \end{array}$$

„In derselben ist nur die sterische Anordnung der Aminogruppe an dem $\alpha$-Kohlenstoff noch unbestimmt, und für die Annahme der Aldehydgruppe gilt der gleiche Vorbehalt wie bei den Zuckern" (E. Fischer, l. c.).

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 139.

[2]) Berl. Ber. **36**, 24.

2. Acetylglucosamin, gefunden von Fränkel und Kelly (l. c.), als Spaltungsprodukt des Chitins und synthetisch von diesen und von R. Breuer[1]) aus freiem Glucosamin und Essigsäureanhydrid in methylalkoholischer Lösung dargestellt.

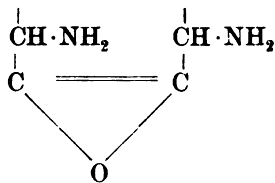
3. Acetyldiglucosamin, unter den Zerfallprodukten des Chitins unter Einwirkung starker Schwefelsäure in der Kälte von uns gefunden und in vorliegender Abhandlung beschrieben.

4. Polymeres Acetyldiglucosamin. Ebenfalls in dieser Abhandlung beschrieben.

5. Chitosan, von Araki (l. c.) durch Einwirkung von schmelzendem Kali auf Chitin gefunden. Araki gibt dem Chitosan die Formel $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$.

6. Die krystallisierten Verbindungen des Chitosans mit Halogenwasserstoffsäuren, welche v. Fürth und Russo (l. c.) beschreiben.

Diese letzteren Autoren nehmen, wie oben erwähnt, an, daß im Chitin jedes Molekül Glucosamin acetyliert ist; ferner nehmen sie an, daß je zwei Moleküle Glucosamin in der Weise miteinander verbunden sind, daß die beiden Aldehydgruppen miteinander reagiert haben.




Gegen diese beiden Annahmen sprechen aber folgende Umstände:

Es ist zu mindest unwahrscheinlich, daß alle Glucosamingruppen im Chitin monoacetyliert sind. Keine von den bisher dargestellten Substanzen stützt diese Annahme; vielmehr haben wir zwei Substanzen gefunden, das Monoacetyldiglucosamin und dessen Polymeres, welche zeigen, daß auf je zwei Moleküle Glucosamin eine Acetylgruppe kommt.

Somit nehmen wir nach diesen Befundeu als Grundlage des Chitins das Monoacetyldiglucosamin an, welches, die weiteren Anschauungen von v. Fürth und Russo als die richtigen voraus-

---

[1]) Berl. Ber. **31**, 2193.

gesetzt, daß nämlich die beiden Glucosaminkomponenten durch die beiden Aldehydgruppen gekuppelt sind, vermöge der freien Aminogruppe alkalisch reagieren müßte. Nun reagieren beide von uns isolierten Substanzen neutral und sind nur äußerst schwache Salzbildner. Es ist daher viel wahrscheinlicher, daß im Acetyldiglucosamin die eine Aminogruppe durch den Acetylrest gedeckt ist, während die zweite Aminogruppe mit der Aldehydgruppe des nächsten Glucosamins reagiert hat.

Dafür spricht auch die schwere Spaltbarkeit des Acetyldiglucosamins, welches sich nur bei Einwirkung konzentrierter Säuren weiter abbauen läßt, und zwar setzt der Abbau vorerst nicht in der Abspaltung der Acetylgruppe vom Aminorest, sondern in der Trennung des Glucosamins vom Acetylglucosamin ein, so daß ein Glucosamin und ein Acetylglucosamin resultiert, was durch das Vorkommen eines Monoacetyl-monoglucosamins (Fränkel und Kelly) bewiesen erscheint.

Daß das Monoacetyldiglucosamin nicht reduziert, kann erklärt werden, indem man annimmt, daß die zweite Aldehydgruppe mit der primär alkoholischen Gruppe der zweiten Glucosaminkomponente reagiert hat, oder daß die Aldehydgruppe nicht existiert, sondern eine äthylenoxydartige Formel des Acetyldiglucosamins anzunehmen ist, ähnlich der von Skraup und Tollens für den Traubenzucker supponierten. Auch Erwig und Koenig haben bei dem Pentaacetat der Glucose diese Erscheinung, Verschwinden des Aldehydcharakters, beobachtet, und der Glucose daher im Pentaacetat eine äthylenoxydartige Formel gegeben.

Unsere Elementaranalysen des Chitins sprechen sehr dafür, daß das Chitin selbst nichts anderes sei als ein sehr hoch polymeres Monoacetyldiglucosamin, denn das Verhältnis zwischen C und N im Chitin läßt nicht die Annahme zu, daß jedes Glucosamin acetyliert ist, sondern daß auf je zwei Glucosamine eine Acetylgruppe entfällt. Die Annahme, daß das Chitin eine Acetylacetessigsäure enthält, erscheint nach unseren analytischen Befunden unhaltbar. Es sprechen vielmehr die Verhältniszahlen dafür, daß das wirkliche Verhältnis C : N = 7 : 1 resp. 14 : 2 ist, was dem Verhältnisse einer monoacetylierten Glutosomin-Biose entspricht. Der von uns etwas höher gefundene Wert für C ist

wohl einer geringen Verunreinigung des analysierten Chitins zuzuschreiben, denn durch die angewendeten Methoden gelingt es offenbar nicht diese letzten Verunreinigungen zu entfernen, da das Chitin eine unlösliche Substanz ist.

## Schlußfolgerungen.

Auf Grund der von uns dargestellten Substanzen und der Analysenresultate kommen wir zu folgenden Schlüssen:

I. Die Grundlage des Chitins ist das Monoacetyldiglucosamin. Die Acetylgruppe ist am N gebunden.

II. Das Chitin ist als ein polymeres Monoacetyldiglucosamin aufzufassen.

III. Die Bindung der beiden Glucosaminreste beruht einerseits auf der Reaktion zwischen Aldehyd und Amin, andererseits ist der zweite Glucosaminrest in äthylenoxydartiger Bindung vorhanden.

# Über die Reversibilität bakterieller Toxine.[1])

Von

**Dr. R. Doerr,**
k. und k. Regimentsarzt.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees Wien.)

*(Eingegangen am 18. Oktober 1907.)*

In einer vor kurzem erschienenen Mitteilung (5) wurde der Beweis erbracht, daß durch die Einwirkung von Säuren auf Diphtherie- oder Dysenterietoxin ungiftige Modifikationen entstehen, die durch Herstellung der Ausgangsreaktion wieder in das ursprüngliche Gift mit allen seinen biologischen Charakteren rückverwandelt werden können.

Man findet bereits in der älteren Literatur Angaben über diese Reversibilität der durch bekannte chemische Agenzien hervorgerufenen Veränderungen bakterieller Toxine. So bewirkten schon Roux und Yersin (9) durch Ansäuerung von Diphtheriegiftlösungen mit Milchsäure oder Weinsäure fast völlige Entgiftung (?) und stellten durch Neutralisierung die Wirksamkeit zum Teil wieder her. Fermi und Pernossi (10) versuchten ähnliches beim Tetanospasmin, jedoch ohne Erfolg. Glücklicher war Chantemesse (6) mit seinen toxischen Filtraten von Typhusbouillonkulturen. Am IX. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie führt er gelegentlich der Beschreibung seines Typhotoxins an: „Il suffit d'acidifier avec l'acide tartrique une dose mortelle pour lui enlever la majeure partie de sa puissance; celle-ci reparait, si on redonne au milieu par l'addition de soude sa réaction primitive alcaline.“ Ritchie (7) endlich vermengte Tetanusgiftlösung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur mit einer

[1]) Nach einem Vortrag, gehalten am XIV. internat. Kongr. f. Hyg., Berlin 1907.

kleinen Menge Salzsäure. Nach einer bestimmten Zeit injizierte er die Mischung subcutan einem Meerschweinchen. Das Tier starb nicht an dem Gifte, wohl aber starb es, wenn die Salzsäure vor der Injektion durch Natronlauge neutralisiert wurde. Ritchie meint, das Tetanusgift würde durch die Säure zerstört und durch den Zusatz der Base wieder hergestellt.

Diese kurzen in verschiedenen Abhandlungen zerstreuten Angaben hatten von keiner Seite Beachtung gefunden und waren auch mir unbekannt, als ich die ersten Versuche über reversible Säuremodifikationen (5) anstellte. In den zusammenfassenden Arbeiten über Bakterientoxine war stets die Ansicht vertreten, daß Säuren, insbesondere solche von hoher Dissoziationskonstante, das Toxin zerstören, d. h. derart verändern, daß es durch den Tierversuch nicht mehr nachweisbar erscheint, eine Ansicht, die mit den gangbaren Anschauungen über die große Labilität des Toxinmoleküls in bestem Einklang stand. Auf die Tatsachen, welche Roux und Yersin, Chantemesse und Ritchie ermittelt, legte man kein Gewicht, ja Behring bezweifelt überhaupt die von Chantemesse mitgeteilten Versuche. Arrhenius (8) gibt in seiner „Immunochemie“ zwar die Richtigkeit der Beobachtung von Ritchie zu, meint aber, „es sei gar nicht nötig, einen so wunderbaren Vorgang, wie die Wiederherstellung zerstörter Toxinmoleküle durch den Zusatz der Base anzunehmen“. Er gibt vielmehr folgende Erklärung: Die von Ritchie zugesetzten Säuremengen waren nicht genügend, um das Toxin in der gegebenen Zeit bei Zimmertemperatur völlig zu zerstören. Nach der Injektion wurde jedoch das Toxinsäuregemisch rasch auf die Körpertemperatur (37° C) erhitzt; infolgedessen schritt der Prozeß weiter fort, und zwar nach den Berechnungen von Arrhenius etwa 200 000 mal rascher als bei 20° C. So wurde also der noch vorhandene Rest unveränderten Toxins „fast augenblicklich“ zerstört, bevor noch eine tödliche Dosis von der Subcutis aus resorbiert werden konnte.

Neutralisiert man jedoch vor der Injektion, so fällt natürlich die nachträgliche Wirkung der Säure auf das Toxin im warmen Tierkörper aus und der unzerstörte Giftrest tritt ungehindert in Aktion.

Diese Erklärung hat sicher viel Bestechendes an sich und könnte für das Tetanospasmin nach meinen Erfahrungen auch

zutreffen; für die Reversionsvorgänge am Diphtherie-, Dysenterie- und Staphylotoxin reicht sie nicht aus, wie noch später gezeigt werden soll.

Ein Interesse gewann die ganze Frage nach der Reversibilität ungiftiger Derivate, wie sie durch Säurewirkung aus bakteriellen Giften erhalten werden können, erst wieder in neuerer Zeit durch die wichtigen Untersuchungen des Kobragiftes, die wir Kyes, Sachs und Morgenroth (1—4) verdanken. Durch Behandlung des Kobrahämolysins mit Salzsäure konnten diese Autoren einen neuen Körper gewinnen, der thermostabil war, seine Affinität zum Antitoxin eingebüßt hatte, durch tierische Membranen wie eine krystalloide Substanz diffundierte und die merkwürdige Eigenschaft der Reversibilität besaß, indem durch Abstumpfen der Säure das genuine Hämolysin mit seinen primären Eigenschaften restituiert werden konnte. Morgenroth hat auch die Gültigkeit des Phänomens für die zweite Komponente des Kobragiftes, das Neurotoxin, erwiesen und am Crotalusgift durch Salzsäure das reversible Neurotoxin vom nicht reversiblen Hämorrhagin abgetrennt. Es ist hier nicht der Ort, auf die prinzipielle Bedeutung dieser Befunde einzugehen, jedenfalls haben sie, sowie die Entdeckung der Schlangengiftlecithide dargetan, daß neben der von Ehrlich ausgearbeiteten Methode der Toxinanalyse durch Prüfung der Giftigkeit und Feststellung der Beziehungen zum Antitoxin noch ein zweiter Weg Erfolg verspricht: das Studium der durch verschiedene chemische Eingriffe veränderten Toxine.

Nachdem nun, wie eingangs erwähnt, gezeigt werden konnte (5), daß sich für die Reversibilität des sauren Kobragiftes mehrfache Analogien bei Toxinen bakteriellen Ursprunges auffinden lassen, wie Morgenroth und Pane von vornherein richtig vermuteten, schien es von Interesse, diese Versuche auf andere Bakteriengifte auszudehnen und in das Wesen des Prozesses tiefer einzudringen, besonders auch die Beziehungen der sauren und revertierten Gifte zu ihren Antitoxinen festzustellen.

Diese Untersuchungen hätten naturgemäß eine wesentliche Vereinfachung erfahren, wenn es gelungen wäre, ein reversibles Bakterienhämotoxin zu ermitteln und an demselben die Erscheinungen in vitro zu studieren nach Art der Experimente von Kyes, Sachs und Morgenroth mit Kobrahämolysin. Leider

blieben alle Bemühungen in dieser Richtung erfolglos. Sowohl die akuten Hämotoxine gewisser Vibrionen (El-Tor) als auch das Staphylolysin waren selbst nach kurzer Einwirkung geringer Konzentrationen von Salzsäure oder Essigsäure nicht mehr restituierbar, auch nicht nach längerem Stehen. Es blieb daher nichts übrig, als das Tierexperiment heranzuziehen. Auf diesem Wege konnte nun zunächst die Reversibilität für ein drittes Toxin demonstriert werden, für das

## I. Staphylotoxin.[1])

Eine 10tägige Bouillonkultur von Staphylokokkus „wirksam" durch Reichelkerzen filtriert, tötete bei intravenöser Injektion von

1,5 ccm Kan. 400, † **in 8 Minuten,**
1,0 ccm Kan. 402, † in 5 Stunden.

1. Versuch.

10,0 Staphylotoxin + 0,1 Acid. hydrochloric. conc., 15 Minuten bei 20° C:

Kan. 333. 1,5 ccm intravenös, † nach zwanzig Stunden;
mit konz. Sodalösung neutralisiert, nach weiteren 15 Minuten injiziert:
Kan. 389. 1,5 ccm intravenös, † nach fünf Stunden.

2. Versuch.

10,0 Staphylotoxin + 0,1 Acid. hydrochloric., 20 Min. bei 20° C:
Kan. 386. 2,0 ccm intravenös, † nach vierzig Stunden;
mit konz. Sodalösung neutralisiert, nach zwanzig Stunden injiziert:
Kan. 153. 2,0 ccm, † nach zwanzig Stunden.

Die stärkere Toxizität der wieder alkalisierten Filtrate ist unverkennbar; immerhin erfolgte aber der Abbau so rasch (15 bis 20'), daß die akut toxische Wirkung, wenigstens in den gewählten Dosen, auch nach Abstumpfung der Säure ausblieb. Es wurde deshalb in einer zweiten Versuchsreihe die schwächere Essigsäure verwendet und trotz 24stündiger Einwirkungsdauer ein unzweideutiges Resultat erzielt.

3. Versuch[2]).

10,0 Staphylotoxin + 0,1 Acid. acetic. conc., 24 Stunden bei Zimmertemperatur:

---

[1]) R. Kraus und Pribram, Wiener klin. Wochenschr. 1906.

[2]) Dieser Versuch hat eine gewisse Ähnlichkeit mit den Erfahrungen Morgenroths am Neurotoxin des Kobragiftes, insofern als hier wie dort die Säure das Inkubationsstadium des Giftes verlängert, während Alkali-

1. Februar. Kan. 375. 2,0 intravenös, † in vier Stunden. Alkalisiert, 10 Minuten später injiziert:

Kan. 310. 2,0 ccm intravenös, † **in 8 Minuten;**
Kan. 401. 2,0 ccm intravenös, † **in 5 Minuten.**

Dasselbe ergab eine Wiederholung des Experimentes:

4. Februar. 10,0 Staphylotoxin + 0,1 Acid. acetic. conc. 24 Stunden bei 20° C:

Kan. 315. 2,0 ccm intravenös, † in drei Stunden;
alkalisiert, nach 15 Minuten injiziert:
Kan. 358. 2,0 ccm intravenös, † **in 4 Minuten.**

Ließ man 1% Essigsäure bei Bruttemperatur einwirken, so war die saure Lösung überhaupt unwirksam; nach dem Alkalisieren wirkten 2,0 ccm so wie 1 ccm des genuinen Giftes.

4. Versuch.

20,0 ccm Staphylotoxin + 0,2 Acid. acetic. conc., 24 Stunden bei 37° C:

4. Februar. Kan. 77. 2,0 ccm intravenös. Überlebt ohne Krankheitserscheinungen;

alkalisiert und nach 15 Minuten injiziert:

4. Februar. Kan. 323. 2,0 intravenös, † in 3 Stunden; nach 35' Minuten injiziert: Kan. 335. 2,0 intravenös, † in 4 Stunden.

Wie man sieht, erfolgt die Regeneration des Staphylotoxins nicht vollständig, d. h. die Säure verwandelt nur einen Teil des Giftes in eine reversible Modifikation, während ein zweiter Anteil in unbekannte irreversible atoxische Verbindungen übergeführt, d. h. nach dem üblichen Ausdrucke „zerstört" wird. Wir werden diesen Verhältnissen beim Diphtherietoxin wieder begegnen.

## II. Versuche mit anderen Toxinen.

Die Experimente mit Tetanusgift, Rauschbrand-, El-Tor-Toxin mißlangen sämtlich, d. h. es war nicht möglich, die durch Ansäuern verlorene Giftigkeit durch Abstumpfung der Säure wieder zum Vorschein zu bringen. Dabei war die angewendete Säure, sowie ihr Konzentrationsgrad, endlich die Dauer ihrer Einwirkung und das Intervall zwischen Neutralisation

---

sieren wieder die frühere kurze Latenzzeit herstellt. Doch ist diese Ähnlichkeit nur eine äußerliche, da Morgenroth fand, daß das saure Kobragift dieselbe Toxizität hat wie das primäre, was beim essigsauren Staphylotoxin nicht der Fall ist, da 2 ccm so wirken wie 1 ccm der nativen Giftlösung (siehe Kaninchen 402).

und Injektion der neutralisierten Gemische mannigfachen Variationen unterworfen worden.

Hier scheint also das Toxinmolekül in der Tat sehr labil zu sein, indem der Säurezusatz schon nach kürzester Zeit den Abbau zu irreversiblen Produkten, die allerdings noch Toxoidcharakter besitzen können, zur Folge hat.

## III. Nachweis der Reversibilität.

Bei der Deutung der hier und a. a. O. mitgeteilten Experimente wäre zunächst der Einwand zu berücksichtigen, den Arrhenius gegen Ritchie erhoben.

Arrhenius hält, wie oben erwähnt, die Rückverwandlung atoxischer Toxinderivate in das primäre Gift für einen höchst unwahrscheinlichen Vorgang.

Diese Ansicht besteht nicht mehr zu Recht; in den Versuchen von Morgenroth am salzsauren Kobrahämolysin und Neurotoxin handelt es sich sicher um echte Reversionsvorgänge, auf welche die Erklärung von Arrhenius schon deshalb keine Anwendung finden kann, weil gerade das salzsaure Kobrahämolysin in hohem Grade thermostabil ist. Übrigens hat Morgenroth die Säuretoxingemische vor Anstellung der hämolytischen und Tierversuche exakt neutralisiert, so daß eine weitere „Toxinzerstörung“ in vitro oder im Organismus a priori ausgeschlossen war.

In meinen Versuchen wurde dagegen das saure Gift als solches injiziert. Bei intravenöser Applikation kann allerdings auch in diesem Falle keine nachträgliche Toxinvernichtung im Organismus stattfinden, da die überschüssige Säure durch das Blutplasma sofort gebunden wird.

Anders liegen aber die Verhältnisse bei subcutaner Injektion. Hier bleibt die Säure noch lange Zeit in Berührung mit dem Gift. Noch nach geraumer Zeit kann man die sauer reagierende Flüssigkeit aus dem Unterhautzellgewebe auspressen, und es ist zuzugeben, daß auf solche Weise die geringere Giftigkeit der sauren Toxinlösungen vorgetäuscht werden kann. Aus diesem Grunde wurden auch alle weiteren Experimente mit Diphtherietoxin nicht mehr subcutan an Meerschweinchen, sondern intravenös an Kaninchen durchgeführt.

Die Säuregemische vor der Injektion zu neutralisieren, ist nicht ratsam, da die Reversion bei den bakteriellen Giften offenbar viel rascher eintritt als beim Kobragift, besonders wenn der geringste Überschuß an Alkali vorhanden ist; bei manchen Toxinen vollzieht sich die Restitution sogar schon nach wenigen Minuten (siehe Staphylotoxin).

Es gibt aber noch einen anderen schlagenden Beweis für die Unrichtigkeit der von Arrhenius gegebenen Erklärung. Man kann die Toxinsäuregemische vor der Reaktivierung durch Sodazusatz einen Tag und länger im Thermostaten bei 37° C halten, ohne an den Erscheinungen der Reversibilität etwas zu ändern. Wären die Berechnungen von Arrhenius richtig, so müßte bei dieser Temperatur und in dieser Zeit die endgültige Zerstörung des Toxins längst erfolgt sein. Das ist aber durchaus nicht der Fall:

5. Versuch.

| Dosis | Diphtherietoxin primär | Toxin + 2% HCl, 24 h bei 37° C | mit Soda alkalisiert, nach weiteren 24 h bei 20° C injiziert |
|---|---|---|---|
| 0,005 | K. 384 † in 5 Tagen | | |
| 0,008 | K. 338 † „ 3 Tagen | | |
| 0,01 | K. 312 † „ 54 h | | K. 373. Überlebt |
| 0,02 | K. 339 † „ 31 h | Kan. 355. Überlebt | K. 309 † in 6 Tagen |
| 0,03 | K. 388 † „ 40 h | „ 317. „ | K. 321 † „ 4 „ |
| 0,04 | K. 303 † „ weniger als 24 h | | |
| 0,05 | K. 398 † „ „ „ 24 h | K. 308 † in 6 Tagen | K. 332 † in 36 h |
| 0,06 | | K. 341 † „ 6 „ | K. 361 † „ 30 h |
| 0,1 | K. 320 † in weniger als 24 h | K. 378 † „ 56 h | K. 336 † „ 30 h |
| 0,2 | | K. 306 † „ 48 h | K. 374 † „ 30 h |

Ganz ähnlich verhielt sich das Dysenterietoxin gegenüber der Einwirkung der Körpertemperatur:

6. Versuch.

A. Toxin Nepustil. Kan. 331 intravenös 1,0 ccm am 4. Januar, † 5. früh.

B. 10,0 ccm + 0,1 Acid. hydrochlor. conc., 24 Stunden bei 37° C:

Kan. 31. 3,0 ccm am 13. Januar intravenös. Überlebt.

C. Die saure Flüssigkeit mit Soda alkalisiert, nach 24 Stunden injiziert:

Kan. 396. 2,0 am 14. Januar, † 16. früh.

Kan. 398. 2,0 am 17. Januar, † 18. früh.

Übrigens kann man salzsaure Diphtheriegiftlösungen nach 24stündigem Stehen bei Bruttemperatur auch subcutan in-

jizieren, ohne daß sich in der Reversibilität eine wesentliche Differenz gegenüber den bei Zimmertemperatur gehaltenen Säuretoxingemischen zeigt:

7. Versuch.

A. Testtoxin 10,0 + 0,2 Acid. hydrochloric. (2% konzentrierte Salzsäure!) 24 Stunden bei 37° C:

Meerschw. 240. 0,05 subcut. 7. März. 11. kleines Infiltrat; überlebt.

Mit Soda alkalisiert nach 24 Stunden injiziert:

Meerschw. 131. 0,05 subcut. 8. März, † nach 4 Tagen.

B. Dasselbe Toxin mit 2 proz. HCl bei Zimmertemperatur 24 Stunden:

Meerschw. 182. 0,05 subcut. 24. Januar. 27. Infiltrat; überlebt.

Alkalisiert und nach 24 Stunden injiziert:

Meerschw. 31. 0,05 subcut. 25. Januar, † nach 3 Tagen.

Damit scheint zur Genüge erwiesen, daß die Erklärung von Arrhenius für die Reversionsvorgänge an bakteriellen Toxinen keine Gültigkeit hat.

Dagegen könnte eingewendet werden, daß die Injektion der Säure resp. des Alkalis für die Toxinwirkung nicht irrelevant ist und besonders im Bereiche kleiner Dosen Differenzen bedingt, um so mehr, als sich in der Literatur Angaben finden, denen zufolge die Toxizität intravenös applizierten Diphtheriegiftes von der Alkalinität des Blutes abhängt. Doch trifft auch dieser Einwand nicht zu, wie man sich leicht überzeugen kann, wenn man Säure und Toxin getrennt injiziert:

8. Versuch.

Kan. 316. 2 ccm 2 proz. HCl in die rechte Ohrvene, 5 Minuten später 0,01 Diphtherietoxin links am 24. Januar. † 27. früh.

Kan. 386. 2 ccm 2 proz. HCl rechts, nach 10 Minuten links intravenös 0,05 Diphtherietoxin am 24. Januar. † 25. vormittags.

Selbst das so empfindliche El-Tor-Toxin wird durch die Säure in seiner Wirksamkeit nicht beeinträchtigt.

9. Versuch.

El-Tor-Toxin 1,8 ccm intravenös. Kan. 1 † in einer Minute.

Kan. 2, links 2 ccm 2 proz. HCl, rechts nach 5 Minuten 1,8 El-Tor-Toxin † in einer Minute;

ebenso bleibt die Säurewirkung aus, wenn man unmittelbar nach dem Mischen von Säure und Toxin injiziert (etwa 2—3 Sekunden):

10,0 ccm El-Tor + 0,1 HCl, gemischt, sofort injiziert:

Kan. 3. 1,8 ccm intravenös, † in einer Minute.

Man muß also in der Tat annehmen, daß die Säure das Toxin in eine ungiftige Modifikation verwandelt, die durch Alkalisieren wieder die Eigenschaften des primären Giftes gewinnt.

## IV. Technik der Versuche.

Über die Bedingungen, unter welchen sich der Vorgang vollzieht, läßt sich vorläufig nur aussagen, daß im allgemeinen alle starken Säuren (Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, von den organischen Essigsäuren) geeignet sind, das Phänomen hervorzurufen, daß dagegen schwache Säuren versagen. Über die nötige Konzentration können bestimmte Angaben schon deshalb nicht gemacht werden, weil die Giftlösungen Bouillonkulturfiltrate darstellen, die neben dem enorm verdünnten Toxin einen sehr wechselnden Gehalt an basischen, mit der zugesetzten Säure reagierenden Salzen enthalten[1]); sicher scheint nur zu sein, daß man den primären stets alkalischen Giftlösungen so viel Säure hinzufügen muß, daß die Flüssigkeit auf Lackmus deutlich sauer reagiert.

10. Versuch.

Je 5 ccm Diphtherietoxin werden mit HCl versetzt und mit Aqu. dest. auf gleiches Volumen aufgefüllt. Nach 30 Minuten werden je 0,05 ccm injiziert am 4. April.

| Zugesetzte Salzsäure: | | Toxizität | |
|---|---|---|---|
| 0,001 | (alkalisch) | K. 368 | 5. VI. † |
| 0,005 | „ | K. 337 | 5. VI. † |
| 0.01 | „ | K. 392 | 5. VI. † |
| 0,0125 | „ | K. 393 | 5. VI. † |
| 0.025 | (sauer) | K. 340 | † 12. VI. |

Um die Reversion zu bewirken, ist freies Alkali notwendig. Das zeigt sich wohl am deutlichsten im Tierversuch. Injiziert man die Toxinsäuregemische intravenös, so wird die überschüssige Säure durch das Blut sofort gebunden; da aber kein freies Alkali vorhanden ist, so tritt die Restitution des genuinen Giftes nicht ein und die Tiere bleiben am Leben. Injiziert man aber Sodalösung

---

[1]) Die Versuche mit dialysierten Toxinen sind noch nicht zum Abschlusse gelangt.

intravenös und etwas später eine saure, an sich unwirksame Toxindosis, so ist die Reversion im Tierkörper möglich, das Tier verendet. Allerdings vollzieht sich der Prozeß begreiflicherweise nicht so vollständig wie im Reagensglase.

11. Versuch.

Kan. 376. 0,05 Diphtherietoxin + 2% HCl (24 Stunden bei 37° C) intravenös am 4. Juni. Überlebt.

Kan. 357. 0,05 desselben Toxinsäuregemisches nach Alkalisierung intravenös am 4. Juni. † 9. Juni.

Kan. 373. 2 ccm einer aufs Fünffache verdünnten konzentrierten Sodalösung rechts intravenös, links nach einer Minute 0,05 ccm desselben Toxinsäuregemisches wie Kan. 376 am 4. Juni. † 10. Juni.

## V. Beziehungen zum Antitoxin.

Betrachtet man die oben wiedergegebene Tabelle (5. Versuch), so ergibt sich zunächst, daß das Toxin nicht vollständig in die reversible Modifikation übergeht, sondern zum Teil erhalten bleibt. Auch mit saurem Toxin injizierte Tiere sterben, wenn die Dosis 0,05 beträgt. Ferner sieht man, daß die Reversibilität nicht vollständig ist, da das Kaninchen 373 mit 0,01 alkalisierten Toxins überlebt. Die Toxizität des genuinen Giftes zum sauren würde sich darnach wie 10 : 1, zum alkalisierten wie 10 : 2,5 verhalten; bei anderen Giftlösungen waren die Zahlen etwas anders, doch immerhin so wenig abweichend, daß man wohl behaupten kann, daß höchstens 30% des infolge Säurewirkung im Experiment nicht mehr nachweisbaren Giftes reversibel sind. Damit stimmen auch die Ergebnisse mit dem Staphylotoxin (4. Versuch). Es bilden sich also unter dem Einfluß der Säure auch nicht mehr reversible Substanzen, die möglicherweise in die Gruppe der Ehrlichschen Toxoide gehören, bei denen ja nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse die toxophore Gruppe ebenfalls irreversibel oder zerstört ist, und die nur durch das Bestehen der haptophoren Gruppe biologisch nachweisbar erscheinen. Für diese Annahme bietet nun der eigentümliche Ausfall der Neutralisationsversuche primärer, saurer und revertierter Diphtheriegiftlösungen mit Antitoxin eine gewisse Stütze. Nachdem ein Vorversuch ergeben hatte, daß das antitoxische Serum die einstündige Einwirkung von 1% HCl in verdünnter Lösung ohne jede Einbuße seines Bindungswertes in vitro verträgt, wurden

zunächst je 100 letale Dosen eines bestimmten Diphtherietoxins mit abgestuften Serumdosen versetzt und nach halbstündigem Verweilen im Thermostaten Kaninchen intravenös injiziert:

12. Versuch.

A.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,5 | Toxin | + 0,0015 | Serum. | Kan. | 330 † in weniger als 20 Stunden. |
| 0,5 | „ | + 0,002 | „ | „ | 368 † in 26 Stunden. |
| 0,5 | „ | + 0,0025 | „ | „ | 398 † in 25 Stunden. |
| 0,5 | „ | + 0,003 | „ | „ | 390 † am 2. Tag früh. |
| 0,5 | „ | + 0,0035 | „ | „ | 391 † am 2. Tag abends. |
| 0,5 | „ | + 0,004 | „ | „ | 366 † am 3. Tag früh. |
| 0,5 | „ | + 0,0045 | „ | „ | 376 † am 6. Tag früh. |
| 0,5 | „ | + 0,005 | „ | „ | 406 überlebt. |

B.

Dasselbe Toxin + 2% HCl, 24 Stunden bei 37° C.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 0,5 | saures Toxin | + 0,0003. | Kan. | 385 † in weniger als 20 Stunden. |
| 0,5 | „ „ | + 0,0006. | „ | 357 † in 25 Stunden. |
| 0,5 | „ „ | + 0,001. | „ | 334 † am 2. Tag früh. |
| 0,5 | „ „ | + 0,002. | „ | 356 † am 4. Tag früh. |
| 0,5 | „ „ | + 0,0025. | „ | 347 † am 4. Tag früh. |
| 0,5 | „ „ | + 0,003. | „ | 321 † am 4. Tag früh. |
| 0,5 | „ „ | + 0,0035. | „ | 363 † am 10. Tag. |
| 0,5 | „ „ | + 0,0035. | „ | 307 † am 9. Tag. |
| 0,5 | „ „ | + 0,004. | „ | 542 überlebt. |

C.

Der Rest der sauren Lösung wurde mit konzentrierter Sodalösung alkalisiert, und zwar 5 ccm mit genau 0,5 Sodalösung.

In 0,55 ccm waren jetzt 0,5 der sauren Stammlösung enthalten. Davon wurde injiziert:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 0,55 | + 0,001. | Kan. | 360 † in 36 Stunden. |
| 0,55 | + 0,0015. | „ | 400 † am 2. Tag früh. |
| 0,55 | + 0,002. | „ | 387 † am 2. Tag abends. |
| 0,55 | + 0,0025. | „ | 304 † am 4. Tag. |
| 0,55 | + 0,003. | „ | 329 † am 3. Tag. |
| 0,55 | + 0,0035. | „ | 399 † am 9. Tag. |
| 0,55 | + 0,004. | „ | 350 überlebt. |

Das zum Versuche verwendete Toxin war das gleiche wie im 5. Versuch. Es ergeben sich daraus drei Folgerungen:

1. Das saure Gift war etwa zehnmal weniger toxisch als das genuine. Die neutralisierende Serumdosis betrug aber für das saure Gift 4 mg, für das primäre 5 mg pro 100 letale Dosen. Der

Bindungswert des sauren Giftes ist daher etwa achtmal größer, als man nach seiner Toxizität erwarten könnte.[1])

2. Das wieder alkalisierte Toxin ist viermal weniger toxisch als das genuine. Die neutralisierende Serumdosis ist aber nicht viermal kleiner (= 0,00125), sondern nur um ein Fünftel geringer. Der Bindungswert des restituierten Giftes ist daher etwa dreimal so groß als der der Giftigkeit entsprechende Wert.

3. Zur Neutralisierung gleicher Mengen sauren und wieder alkalisierten Toxins sind gleiche Serumquantitäten erforderlich.

In der sauren sowohl als in der alkalisierten Lösung müssen also Körper vorhanden sein, deren toxophore Gruppe „zerstört" oder wenigstens unwirksam ist, die jedoch noch Antitoxin binden, nach Ehrlichs Ausdrucksweise also Toxoide, und zwar Protoxoide, da sie eine höhere Affinität zum Antitoxin haben als das unzersetzte Gift.

Auch die Frage nach dem Bindungsvermögen der reversiblen Toxinderivate läßt sich beantworten. Da das saure und das revertierte Gift gleichviel Serum zur Neutralisation benötigen, so müssen auch die in der sauren Lösung vorhandenen ungiftigen, reversiblen Körper mit einer haptophoren Gruppe ausgestattet sein.

Es sei ein zweiter Versuch mit einem anderen Toxin und demselben Serum wiedergegeben, der gleichfalls an Kaninchen in der nämlichen Weise durchgeführt wurde:

13. Versuch.

A. Toxizität des primären, sauren und revertierten Giftes.

| Dosis | Primäres Gift | Toxin + 2% HCl, 24 h bei 37° C | Alkalisiert |
|---|---|---|---|
| 0,005 | K. 392 † am 5. Tage | | |
| 0,01 | K. 360 † in 56 h | | |
| 0,015 | | | K. 395. Überlebt |
| 0,02 | K. 308 } † am 2. Tage früh | K. 375 } Überlebt | K. 342 † am 4. Tage |
| 0,025 | K. 347 } † am 2. Tage früh | K. 388 } Überlebt | |
| 0,03 | K. 390 } † am 2. Tage früh | K. 393 } Überlebt | K. 319 † am 3. Tage |
| 0,04 | K. 306 † in 32 h | K. 307 } Überlebt | K. 331 † in 56 h |
| 0,06 | | K. 302 † in 22 Tagen | K. 338 † in weniger als 40 h |
| 0,08 | | K. 309 † in 11 Tagen | K. 346 † in 28 h |
| 0,1 | | K. 304 † am 5. Tage | |

[1]) Allerdings könnte auch die Gegenwart der Säure den Bindungsvorgang beeinträchtigen resp. verzögern, so daß trotz quantitativ erhaltenen Serumwertes die Avidität sinkt. In den vorliegenden Versuchen ist dieser Faktor noch nicht berücksichtigt. Die für das wiederalkalisierte Toxin gezogenen Schlüsse werden durch diese Eventualität nicht tangiert.

Die Neutralisation mit Antitoxin ergab:

A. Für das primäre Gift:

0,5 Toxin + 0,003. Kan. 326 † in 30 Stunden.
0,5 „ + 0,0035. „ 327 † in 32 Stunden.
0,5 „ + 0,004. „ 338 † am 4. Tag.
0,5 „ + 0,0045. „ 301 † am 11. Tag.
0,5 „ + 0,005. „ 341 überlebt.

B. Für das saure Gift:

0,5 Toxin + 0,0015. † am 3. Tag.
0,5 „ + 0,002. † am 15. Tag.
0,5 „ + 0,0025. † am 30. Tag.
0,5 „ + 0,003. Überlebt.

C. Für das alkalisierte Gift:

0,5 Toxin + 0,0015. † am 4. Tag.
0,5 „ + 0,002. † am 9. Tag.
0,5 „ + 0,0025. † am 10. Tag.
0,5 „ + 0,003. Überlebt.

Es spiegeln sich hier dieselben Verhältnisse wider, wie bei dem ersten Toxin. (Es sei nur bemerkt, daß diese Antitoxinversuche an Meerschweinchen undurchführbar erscheinen, weil sie besonders bei den sauren Toxinen und den sauren Toxin-Antitoxingemischen stets wechselnde Resultate liefern, offenbar infolge der Veränderungen, die Gift und Immunkörper nachträglich im subcutanen Zellgewebe erleiden. Damit war auch eine Kontrolle der wiedergegebenen Experimente am Meerschweinchen unmöglich.)

## VI. Stabilität der reversiblen Körper.

Es hat den Anschein, daß die reversiblen Modifikationen ein Zwischenprodukt in dem Umwandlungsprozeß des Toxins zu dauernd irreversiblen Produkten darstellen. Dies geht schon daraus hervor, daß in derselben angesäuerten Giftlösung unzersetztes Toxin, reversible Körper und irreversible, aber bindende Substanzen nebeneinander vorhanden sind. Läßt man ferner Diphtherietoxin längere Zeit in Berührung mit Salzsäure, so wird die Flüssigkeit nicht nur atoxisch, sondern bleibt es auch nach dem Alkalisieren.

14. Versuch.

Diphtherietoxin (Dos. let. = 0,005) wird am 28. November mit 2proz. HCl versetzt, am 16. Januar, nach 50 Tagen neutralisiert und nach 24 Stunden injiziert:

17. Januar. Kan. 85 0,2, bleibt glatt.
„ 221 0,3, „ „

Nach weiteren 3 Tagen:

20. Januar. Kan. 153 0,5, bleibt glatt.
„ 80 1,0, „ „

**Durch längere Säurewirkung werden also auch die reversiblen Toxinderivate irreversibel. Das gilt aber nur für das Diphtherietoxin; beim Dysenterietoxin sind diese neuen Körper außerordentlich stabil:**

15. Versuch.

Dysenterietoxin, am 28. November mit 2 proz. HCl versetzt, am 16. Januar alkalisiert; am 17. Januar Kan. 348 2,0 intravenös. 18. Paresen, 19. † (positiver Darmbefund!).

Selbstverständlich kann man mit sauren Giftlösungen auch immunisieren, einerseits wegen ihres Gehaltes an unzersetztem Toxin, andererseits wegen ihres Reichtums an ungiftigen Haptinen. Diese Tatsache haben ja schon Bergell, Mayer u. a. für das Tetanustoxin und Typhotoxin bewiesen.

Ob es sich bei der Bildung reversibler Produkte um eine Salzbildung (Kyes) oder um eine intramolekulare Umlagerung handelt, die nach Abstumpfung der Säure durch Katalysatorenwirkung wieder rückgängig wird, muß wohl vorläufig dahingestellt bleiben. Vielleicht geben weitere Versuche mit dialysierten oder Trockentoxinen einen Aufschluß.

---

## Literatur.


1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. **1905**.
2) Derselbe, Festschrift zur Eröffnung des pathologischen Instituts in Berlin 1906.
3) Derselbe, diese Zeitschr. **1907**.
4) Morgenroth und Pane, diese Zeitschr. **1906**.
5) Doerr, Wiener klin. Wochenschr. **1907**.
6) Chantemesse, IX. intern. Kongreß f. Hygiene u. Demographie. April 1898.
7) Ritchie, Journ. of Hygiene **1904**, zit. n. Arrhenius.
8) Arrhenius, Immunochemie, Leipzig 1907.
9) Roux und Yersin, Annales de l'Inst. Pasteur **1889**.
10) Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hygiene **1894**.

# Beeinflussung der Autolyse durch anorganische Kolloide.

## III. Mitteilung.

### Wirkung von Giften.

Von

Privatdozent Dr. **M. Ascoli** und stud. med. **G. Izar.**

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie der Kgl. Universität Pavia [Prof. L. Devoto].)

*(Eingegangen am 21. Oktober 1907.)*

In einer früheren Mitteilung[1]) wurde gezeigt, daß durch Zusatz von kolloidalen Metallen die Leberautolyse energisch angefacht wird. Nun wird bekanntlich nach den Untersuchungen Bredigs[2]) die katalytische Wirkung des nach seiner elektrischen Methode hergestellten kolloidalen Platins auf die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds durch äußerst geringe Spuren von „Giften“, wie Blausäure, Schwefelwasserstoff usw. erheblich geschwächt. Im Hinblick auf die nähere Erforschung des Wirkungsmechanismus der kolloidalen Metalle auf die Autolyse schien es deshalb angebracht, zunächst zu prüfen, ob in der Beeinflussung durch die erwähnten Substanzen ein weiterer Berührungspunkt der Wirkungen jener kolloidalen Lösungen auf die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds einerseits und auf die Autodigestion andererseits hervorträte.

Bezüglich der technischen Einzelheiten verweisen wir auf die früheren Mitteilungen. Aus Bequemlichkeitsrücksichten verwendeten wir statt des Platins kolloidale Silberlösungen; dieselben wurden zuerst mit wechselnden Mengen Wasser und Gift auf 50 ccm aufgefüllt und nach 15 Minuten (Zimmertemperatur) zum Leberbrei hinzugefügt. Willkommene Hinweise betreffs der zu-

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 4; vgl. auch diese Zeitschr. **5**, 394, 1907.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **31**, 258, 1899; **37**, 1, 1901.

zusetzenden Giftmengen besaßen wir in den Bredigschen Angaben, welche sich auch tatsächlich im allgemeinen als zuverlässige Anhaltspunkte herausstellten; je nach dem Ausfalle der Resultate wurden dann weitere Proben mit stärkeren resp. geringeren Verdünnungen angestellt.

Jedoch konnte es bei dem im Verhältnis zu den einfachen und durchsichtigen Versuchsbedingungen Bredigs in unseren Untersuchungen viel komplizierteren Sachverhalte und ihrer noch dazu viel größeren Umständlichkeit, natürlich nicht in unserer Absicht liegen, für jede Verbindung die Grenzen der Giftigkeit und den Verlauf der Autolyse bei wachsendem Zusatze durch entsprechende Versuchsreihen genau zu erforschen; vielmehr strebten wir allein die prinzipielle Feststellung der Wirksamkeit der geprüften Substanzen an und beschränkten uns deshalb auf die Bestimmung grober Annäherungswerte ihrer Aktivität.

Es mußte ferner die Möglichkeit im Auge behalten werden, ob nicht die herangezogenen Gifte den autolytischen Vorgang selbst zu hemmen imstande wären, wissen wir doch, daß z. B. die Reaktionsgeschwindigkeit der Blutkatalase (Senter[1])) durch die meisten jener Agentien ebenfalls verringert wird. Was die Autolyse betrifft, konnten wir in der Literatur keine diesbezüglichen Angaben auffinden, mit Ausnahme einer Bemerkung von Salkowski[2]), daß Gautier bei Autodigestionsversuchen zur Vermeidung von Fäulnis sich der Blausäure mit Erfolg bedient hat. Wie wir gleich vorwegnehmen wollen, ergaben die zu diesem Zwecke unternommenen und den Tabellen beigelegten Nullversuche, daß für die von uns geprüften Substanzen eine Schädigung der Autolyse nicht in Betracht kommt.

Folgende Verbindungen wurden in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen: Blausäure, Quecksilberchlorid, Quecksilbercyanid, Jod, Arsenige Säure, Kohlenoxyd, Salzsäure, Chlorammonium, Salpetersäure, Kaliumchlorat, phosphorige Säure, Natriumnitrit, Schwefelkohlenstoff, Oxalsäure. Wir gehen nunmehr zur Besprechung der aus den folgenden Versuchsprotokollen sich ergebenden Schlußfolgerungen über.

---

[1]) Inaug.-Dissert., Leipzig 1903; Zeitschr. f. physikal. Chem. 51, 673, 1905.

[2]) „Über Autolyse" in: Die deutsche Klinik am Eingange des XX. Jahrhunderts.

Tabelle I.[1])

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 7,14<br>7,42 |
| 2 | 40 | — | — | — | 11,90<br>11,34 |
| 3 | 40 | Ag 20 Nr. IV | — | — | 14,14<br>14,60 |
| 4 | 40 | — | HCN | 11000000 | 11,06<br>10,64 |
| 5 | 40 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 11000000 | 11,20<br>11,34 |
| 6 | 72 | — | — | — | 18,90<br>18,34 |
| 7 | 72 | Ag 20 Nr. IV | — | — | 27,16<br>26,60 |
| 8 | 72 | — | HCN | 11000000 | 17,50<br>18,48 |
| 9 | 72 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 11000000 | 19,60<br>19,18 |

Tabelle II.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes. Verdünnung desselben in Litern 10000000 pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | 4,90<br>5,32 |
| 2 | 24 | — | — | 12,04<br>12,46 |
| 3 | 24 | Ag 20 Nr. IV | — | 14,98<br>14,70 |
| 4 | 24 | — | HCN | 11,62<br>12,04 |

[1]) Folgende Präparate kolloidalen Silbers wurden benutzt:

$$\text{Ag} \cdot \text{Nr. IV} = \frac{1}{t} \log \frac{a}{x - a} = 0{,}0234, \text{ Ag-Gehalt} = 0{,}031\,^0/_0$$

$$\text{Ag} \cdot \text{Nr. V} = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x} = 0{,}0149, \text{ Ag-Gehalt} = 0{,}0175\,^0/_0$$

$$\text{Ag} \cdot \text{Nr. VI} = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x} = 0{,}0307, \text{ Ag-Gehalt} = 0{,}0289\,^0/_0.$$

Tabelle II. (Fortsetzung.)

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes Verdünnung desselben in Litern 10 000 000 pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 24 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 11,34<br>11,48 |
| 6 | 48 | — | — | 14,14<br>14,56 |
| 7 | 48 | Ag 20 Nr. IV | — | 17,08<br>16,80 |
| 8 | 48 | — | HCN | 13,72<br>14,00 |
| 9 | 48 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 13,86<br>14,28 |
| 10 | 72 | — | — | 15,68<br>15,82 |
| 11 | 72 | Ag 20 Nr. IV | — | 19,18<br>19,60 |
| 12 | 72 | — | HCN | 15,54<br>15,54 |
| 13 | 72 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 16,24<br>16,80 |
| 14 | 110 | — | — | 17,78<br>17,08 |
| 15 | 110 | Ag 20 Nr. IV | — | 24,78<br>25,76 |
| 16 | 110 | — | HCN | 17,36<br>16,80 |
| 17 | 110 | Ag 20 Nr. IV | HCN | 19,32<br>19,88 |

Tabelle III.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | Fn 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 6,72<br>6,72 |
| 2 | 72 | — | — | — | 9,10<br>9,52 |
| 3 | 72 | Ag 20 Nr. IV | — | — | 13,16<br>13,58 |
| 4 | 72 | — | $Hg(CN)_2$ | 575 000 | 8,82<br>8,40 |
| 5 | 72 | Ag 20 Nr. IV | $Hg(CN)_2$ | 575 000 | 8,96<br>9,80 |

Tabelle IV.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 7,00<br>7,28 |
| 2 | 60 | — | — | — | 11,62<br>11,90 |
| 3 | 60 | Ag 20 Nr. V | — | — | 14,00<br>14,28 |
| 4 | 60 | — | $Hg(CN)_2$ | 575000 | 11,20<br>11,06 |
| 5 | 60 | Ag 20 Nr. V | $Hg(CN)_2$ | 575000 | 11,20<br>11,48 |
| 6 | 60 | — | J | 1016000 | 11,06<br>11,62 |
| 7 | 60 | Ag 20 Nr. V | J | 1016000 | 12,04<br>12,32 |
| 8 | 60 | — | $HgCl_2$ | 474200 | 11,76<br>12,04 |
| 9 | 60 | Ag 20 Nr. V | $HgCl_2$ | 474200 | 11,34<br>11,62 |

Tabelle V.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 9,52<br>10,08 |
| 2 | 96 | — | — | — | 14,14<br>14,70 |
| 3 | 96 | Ag 20 Nr. V | — | — | 29,26<br>29,54 |
| 4 | 96 | Ag 20 Nr. V | $Hg(CN)_2$ | 5750000 | 18,0<br>18,3 |
| 5 | 96 | — | $Hg(CN)_2$ | 5750000 | 14,00<br>13,72 |
| 6 | 96 | Ag 20 Nr. V | $Hg(CN)_2$ | 130000 | 10,08<br>10,36 |
| 7 | 96 | — | $Hg(CN_2)$ | 130000 | 9,94<br>10,36 |
| 8 | 96 | Ag 20 Nr. V | $HgCl_2$ | 948400 | 14,40<br>14,54 |
| 9 | 96 | — | $HgCl_2$ | 948400 | 14,56<br>15,12 |
| 10 | 96 | Ag 20 Nr. V | $HgCl_2$ | 129680 | 14,84<br>15,12 |
| 11 | 96 | — | $HgCl_2$ | 129680 | 14,0<br>14,28 |
| 12 | 96 | Ag 20 Nr. V | CO | Sättig | 13,86<br>14,42 |
| 13 | 96 | — | CO | Sättig | 14,14<br>14,84 |

Tabelle VI.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 4,90<br>5,32 |
| 2 | 110 | — | — | — | 17,78<br>17,08 |
| 3 | 110 | Ag 20 Nr. V | — | — | 24,78<br>25,76 |
| 4 | 110 | — | HCN | 10 000 000 | 16,80<br>17,08 |
| 5 | 110 | Ag 20 | HCN | 10 000 000 | 19,32<br>19,88 |
| 6 | 110 | — | J | 5 080 000 | 18,06<br>17,64 |
| 7 | 110 | Ag 20 | J | 5 080 000 | 16,38<br>16,80 |
| 8 | 110 | — | $HgCl_2$ | 3 140 000 | 18,06<br>18,48 |
| 9 | 110 | Ag 20 | $HgCl_2$ | 3 140 000 | 17,50<br>17,08 |
| 10 | 110 | — | HCl | 3 650 | 18,06<br>17,64 |
| 11 | 110 | Ag 20 | HCl | 3 650 | 16,66<br>16,80 |
| 12 | 110 | — | $C_4O_8H_2$ | 1 200 | 17,92<br>17,50 |
| 13 | 110 | Ag 20 | $C_4O_8H_2$ | 1 200 | 18,48<br>18,90 |
| 14 | 110 | — | $As_2O_3$ | 600 | 14,14<br>14,70 |
| 15 | 110 | Ag 20 | $As_2O_3$ | 600 | 14,28<br>13,58 |
| 16 | 110 | — | $H_3PO_3$ | 50 | 6,30<br>6,72 |
| 17 | 110 | Ag 20 | $H_3PO_3$ | 50 | 7,28<br>6,72 |
| 18 | 110 | — | $NNaO_4$ | 25 | 4,62<br>5,04 |
| 19 | 110 | Ag 20 | $NNaO_4$ | 25 | 4,48<br>5,04 |

Tabelle VII.

| Nummer | Versuchs-dauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdauung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 5,04<br>4,62 |
| 2 | 50 | — | — | — | 8,40<br>8,68 |
| 3 | 50 | Ag 20<br>Nr. VI | — | — | 13,86<br>14,28 |
| 4 | 50 | — | HCl | 1825 | 8,54<br>8,82 |
| 5 | 50 | Ag 20 | HCl | 1825 | 7,98<br>8,68 |
| 6 | 50 | — | $C_4O_8H_2$ | 500 | 7,84<br>8,54 |
| 7 | 50 | Ag 20 | $C_4O_8H_2$ | 500 | 8,40<br>8,68 |
| 8 | 50 | — | $KClO_3$ | 580 | 7,60<br>7,98 |
| 9 | 50 | Ag 20 | $KClO_3$ | 580 | 10,50<br>10,64 |
| 10 | 50 | — | $HNO_3$ | 800 | 8,26<br>9,10 |
| 11 | 50 | Ag 20 | $HNO_3$ | 800 | 14,0<br>14,14 |
| 12 | 50 | — | $NH_4Cl$ | 100 | 8,54<br>8,68 |
| 13 | 50 | Ag 20 | $NH_4Cl$ | 100 | 11,20<br>11,34 |
| 14 | 50 | — | $Hg(CN)_2$ | 250000 | 8,12<br>8,54 |
| 15 | 50 | Ag 20 | $Hg(CN)_2$ | 250000 | 7,98<br>8,40 |

Tabelle VIII.

| Nummer | Versuchsdauer in Stunden | Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm | Art des Giftes | Verdünnung desselben in Litern pro g-Mol. | In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | — | — | — | 7,14<br>7,70 |
| 2 | 72 | — | — | — | 17,50<br>17,78 |
| 3 | 72 | Ag 20 Nr. VI | — | — | 30,80<br>30,52 |
| 4 | 72 | — | $H_3PO_3$ | 654 | 17,08<br>16,80 |
| 5 | 72 | Ag 20 | $H_3PO_3$ | 654 | 17,92<br>18,20 |
| 6 | 72 | — | $NNaO_4$ | 230 | 16,10<br>16,38 |
| 7 | 72 | Ag 20 | $NNaO_4$ | 230 | 17,78<br>17,08 |
| 8 | 72 | — | $As_2O_3$ | 2050 | 15,40<br>15,82 |
| 9 | 72 | Ag 20 | $As_2O_3$ | 2050 | 15,26<br>14,98 |
| 10 | 72 | — | $KClO_3$ | 1021 | 16,10<br>16,24 |
| 11 | 72 | Ag 20 | $KClO_3$ | 1021 | 25,90<br>26,60 |
| 12 | 72 | — | $HNO_3$ | 315 | 17,36<br>17,08 |
| 13 | 72 | Ag 20 | $HNO_3$ | 315 | 28,28<br>28,98 |
| 14 | 72 | — | $NH_4Cl$ | 44 | 17,50<br>17,78 |
| 15 | 72 | Ag 20 | $NH_4Cl$ | 44 | 25,90<br>26,46 |
| 16 | 72 | — | $CS_2$ | 1000 | 16,80<br>17,36 |
| 17 | 72 | Ag 20 | $CS_2$ | 1000 | 17,78<br>18,06 |
| 18 | 72 | — | $CS_2$ | 5000 | 17,50<br>17,92 |
| 19 | 72 | Ag 20 | $CS_2$ | 5000 | 21,70<br>22,40 |

Den Tabellen entnehmen wir, daß die geprüften Verbindungen, mit wenigen Ausnahmen, die Fähigkeit besitzen, die beschleunigende Wirkung elektrisch hergestellten kolloidalen Silbers auf die Leberautolyse in verschiedenem Maße herabzusetzen, bezw. aufzuheben, ähnlich wie die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch Platinsol oder Hämase.

Eine weitere Wirkungsanalogie, welche speziell die Blausäure betrifft, gibt sich in der von Bredig als Erholung von der Giftwirkung bezeichneten Erscheinung kund. Schon Schönheim[1]) und Jacobsohn[2]) hatten bei einer Reihe von Fermenten beobachtet, daß ihre durch Spuren von Blausäure zum Schwinden gebrachte katalytische Wirksamkeit auf Wasserstoffsuperoxyd nach einem gewissen Zeitverlaufe wieder zutage tritt; demselben Befunde begegnete Bredig beim Studium der Lähmung der Platinkatalyse.

Die Einsicht in Tabellen I, II, VI lehrt nun, daß auch die durch Blausäure aufgehobene Beschleunigung der Leberautolyse bei Zusatz kolloidalen Silbers nach einiger Zeit (über 48 Stunden) wieder einsetzt. Auch hier ist also die Lähmung keine dauernde; die aktivierende Wirkung des kolloidalen Silbers erweist sich als erholungsfähig und ihrer Lähmung folgt tatsächlich auch die Erholung. In einem Punkte, nämlich in den zeitlichen Verhältnissen weichen jedoch die besprochenen Erholungserscheinungen untereinander ab; bei gleicher Blausäurekonzentration nimmt das Wiederauftreten der Autolysebeschleunigung erheblich längere Zeit in Anspruch, als jenes der Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds.

Abgesehen von dem Umstande, daß unsere Untersuchungen sich abweichend von Bredig und Senter auf kolloidales Silber statt Platin erstrecken, wäre schon in Anbetracht der aus den früher auseinandergesetzten Gründen nur annähernd erfolgten quantitativen Bestimmung der Giftwirkung eine vergleichende tabellarische Gegenüberstellung derselben und der exakten Zahlen Bredigs für die Hemmung der Platinkatalyse des Wasserstoffsuperoxyds sowie der entsprechenden von Senter für die Hämase erhobenen unzulässig. Jedoch kommt schon in unseren grob-

---

[1]) [2]) Zitiert nach Bredig, l. c.

gültigen Werten eine weitgehende Übereinstimmung der quantitativen Verhältnisse deutlich zum Ausdruck. Wollte man hiernach trotz allem die verschiedenen Substanzen nach ihrer Hemmungswirkung auf die Autolysebeschleunigung durch kolloidales Silber in Gruppen einteilen, wie es Bredig für ihren Einfluß auf die Platinkatalyse getan hat, so würden dieselben ungefähr denselben Platz einnehmen wie in der Bredigschen Skala. Eine Ausnahme wäre nur für das Chlorammonium zu verzeichnen, welches die Aktivierung der Autodigestion unbeeinflußt ließ, während es ein mittelstarkes Platingift bei der Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds darstellt.

---

# Physikalisch-chemische Untersuchungen über das Lecithin und Cholesterin.

Von

**O. Porges und E. Neubauer.**

(Aus der I. medizinischen Klinik der Universität zu Wien [Prof. C. von Noorden].)

*(Eingegangen am 24. Oktober 1907.)*

## I. Physikalische Zustandsänderungen von Lecithin- und Cholesterinsuspensionen.

Die lecithin- und cholesterinartigen Substanzen scheinen im Haushalte des Organismus, wie namentlich aus den Forschungen der letzten Jahre immer deutlicher hervorgeht, eine wichtige Rolle zu spielen. Die Vermittlung des Stoffaustausches zwischen Zelle und umspülenden Gewebssäften, die Wirksamkeit vieler Pharmaka, manche Erscheinungen der Immunität, Aufnahme und Transport zahlreicher Substanzen im Organismus und noch andere Funktionen stehen mit ihrer Anwesenheit im Zusammenhang. Für diese mannigfachen Beziehungen zu den Lebensvorgängen dürften, wie zuerst die bekannten Untersuchungen von Overton, sowie Meyer gezeigt haben, nicht so sehr ihre chemischen als vielmehr ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften von Bedeutung sein. Um so auffallender ist es, daß bisher systematische Untersuchungen über das physikalisch-chemische Verhalten dieser Substanzen noch ausstehen[1]).

Diese Lücken nach Möglichkeit auszufüllen, ist der Zweck der nachfolgenden Untersuchungsreihe.

### Versuche.

Im Organismus sind Lecithin und Cholesterin mit dem Gewebswasser und den in demselben gelösten Bestandteilen im

[1]) Die Untersuchungen von Koch (1), die den ersten Schritt in dieser Richtung bedeuten, bringen wegen ihrer Unvollständigkeit, wie noch gezeigt werden wird, in den wichtigsten Fragen keinen Aufschluß.

Kontakt. Beide Substanzen sind wasserunlöslich. Das Lecithin quillt im Wasser und läßt sich zu einer homogenen filtrierbaren Suspension verteilen, der, wie zuerst Thudichum (2) gezeigt hat, die Eigenschaften einer kolloidalen Lösung zukommen. Das Cholesterin läßt sich an sich nicht ebenso leicht verteilen, gibt jedoch, wie bekannt, unter Mitwirkung von Lecithin oder Eiweiß ebenfalls eine haltbare Suspension. Durch gewisse Maßnahmen gelingt es nun, wie wir weiter unten zeigen werden, auch das reine Cholesterin in den Suspensionszustand überzuführen. Die physikalisch-chemischen Reaktionen der Suspensionen, die sich wie Kolloidlösungen verhalten, ihre Beziehungen zu Elektrolyten, zu andern Kolloiden werden uns am besten ein Urteil über ihre Zustandsform und ihre Veränderungen im Organismus gestatten.

Über die Zustandsänderungen der Lecithinsuspensionen liegen die schon erwähnten Untersuchungen von W. Koch vor. Die Ergebnisse seiner Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Säuren fällen, Alkalien lösen die Suspensionen. Die Salze der Alkalimetalle wirken in keiner Konzentration fällend. Die Salze zweiwertiger Metalle (Ca, Sr, Ba; Ko, Ni, $Fe_{II}$, Cu, Pb, Zn, Cd) bilden Niederschläge. Salze dreiwertiger Metalle ($Fe_{III}$, Al) lassen die Suspension unverändert. Nichtelektrolyte, wie Zucker, Harnstoff und Kolloide, wie Eiweiß und Albumosen, haben keinen wahrnehmbaren Einfluß. Salze einwertiger und dreiwertiger Kationen können die durch zweiwertige Metalle erzeugten Fällungen hemmen.

Wie sich aus nachfolgenden Untersuchungen ergeben wird, sind wir größtenteils zu andern Ergebnissen und Schlußfolgerungen gelangt, was darin seinen Grund haben mag, daß uns bei Anordnung unserer Versuche die jüngsten Erfahrungen der Kolloidchemie zustatten kamen.

Versuchsmethodik. Die bei unseren Versuchen zur Verwendung gelangten Suspensionen waren auf nachstehende Art hergestellt: Eine Lösung von Merckschem Lecithin in reinem Äther wird in eine bestimmte Menge von destilliertem Wasser eingetragen, hierauf der Äther mittels Luftdurchleitung vollständig entfernt. Es resultiert eine homogene, haltbare Suspension. Je nach der Menge verwendeter Lecithinlösung lassen sich Suspensionen verschiedener Konzentration herstellen.

Die Cholesterinsuspension erhielten wir aus einer Lösung von Merckschem Cholesterin in Aceton, die vorsichtig in kleinen Portionen in Wasser gegossen wird (trägt man zuviel auf einmal ein, so bilden sich grobe Flocken).

Sobald sich eine etwas dichtere Trübung gebildet hat, wird das Aceton aus einem Becherglase auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme abgedampft, wobei eine zu schnelle Verdunstung zu vermeiden ist. Hierauf wird eine neue Portion der Cholesterinlösung eingetragen, das Aceton abermals verjagt und dieser Vorgang so lange wiederholt, bis die Suspension die gewünschte

### *A. Wirkungsweise der*

**Tabelle**

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithin-

| | Vers.-Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Salz | LiCl | NaFl | $Na_2SO_4$ | Na ac. | NaCl | $NaNO_3$ | NaBr |
| Konzentration in Normallösung | Mit Salz in Substanz gesättigt | | | +++ | | — | —²) | |
| | 5 f. n | + | | | + | — | — | —²) |
| | 3 f. n | ++ | | +++ | + | + | | — |
| | 1½ f. n | +++ | | ++ | +++ | ++ | ± | ± |
| | n | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | + | ± |
| | n/2 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | | |
| | n/5 | +++ | — | +++ | — | — | — | — |
| | n/10 | +++ | | | | | | |
| | n/20 | — | — | — | — | — | | — |
| | n/100 | | | — | | — | — | |
| | n/500 | | | — | | — | — | |
| | n/2000 | | | — | | — | — | |

¹) +++ bedeutet vollständige, ++ partielle, + spurweise Fällung,
²) **Die Suspension hat sich aufgehellt.**

**Tabelle**

Je gleiches Volumen von 0,2 % Chole-

| | Vers.-Nr. | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Salz | LiCl | NaFl | $Na_2SO_4$ | Na ac. | NaCl | $NaNO_3$ |
| Konzentration in Normallösung | 5 fn | +++ | | | +++ | +++ | +++ |
| | n | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| | n/5 | + | — | — | — | — | — |
| | n/20 | — | — | — | — | — | — |
| | n/100 | | — | — | — | — | — |
| | n/500 | | — | — | — | — | — |
| | n/2000 | | — | — | — | — | — |

**Konzentration erreicht hat. Schließlich wird, um einzelne Flocken zu entfernen, durch dünnes Papier filtriert. Man erhält auf diese Art mit Leichtigkeit dichtmilchige, gleichwohl aber dauerhafte Suspensionen. Die Mengenverhältnisse unserer Versuche sind aus den Tabellen zu ersehen. Die Vermerkung des Resultates erfolgte, wo nichts anderes angegeben ist, nach 24stündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur. Die Lecithinniederschläge beginnen sich oft erst nach mehreren Stunden abzuscheiden, während das Cholesterin gewöhnlich nach wenigen Minuten ausflockt.**

*Salze der Alkalimetallsalze.*

**I.**

**suspension und Salzlösung.**[1]

| 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NaJ | NaCyS | $(NH_4)_2SO_4$ | $NH_4Cl$ | KCl | KJ | $MgSO_4$ | $MgCl_2$ |
| | | +++ | | | | — | — |
| —[2] | —[2] | + | — | | | — | — |
| — | — | ± | | + | —[2] | + | — |
| — | — | + | ++ | | | | |
| — | — | +++ | +++ | + | —[2] | +++ | +++ |
| | | +++ | + | — | — | +++ | |
| — | — | +++ | | | | ++ | — |
| | | — | — | — | — | — | |
| — | — | | | | | — | — |
| | | | | | | +++ | +++ |
| | | | | | | — | — |
| | | | | | | — | — |

± bezeichnet Trübung, — keine Veränderung.

**II.**

**sterinsuspension und Salzlösung.**

| 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| NaBr | NaJ | NaCyS | KCl | $NH_4SO_4$ | $NH_4Cl$ | $MgSO_4$ |
| +++ | +++ | +++ | | | | |
| ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | +++ |
| — | — | — | — | ++ | — | +++ |
| — | — | — | — | — | — | +++ |
| — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — |

## Tabelle III.

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithinsuspension bzw. 0,2 % Cholesterinsuspension und Säureverdünnung.

| | Versuchs-Nummer | Lecithin 29 | Lecithin 30 | Cholesterin 31 | Cholesterin 32 |
|---|---|---|---|---|---|
| | Säure | HCl | Weinsäure | HCl | Weinsäure |
| Säurekonzentration in Normallösung | 5 f. n | | — | | |
| | n | +++ | — | +++ | +++ |
| | n/5 | — | — | +++ | +++ |
| | n/20 | — | +++ | +++ | ++ |
| | n/50 | — | — | | |
| | n/100 | — | — | + | — |
| | n/200 | +++ | — | | |
| | n/500 | — | — | — | — |
| | n/2000 | — | — | — | — |
| | Konz. Säure | — | | | |

Aus den in obigen Tabellen angeführten Versuchen ergibt sich, daß sowohl Lecithin- als auch Cholesterinsuspensionen säurefällbar sind. Während das Cholesterin von einer bestimmten Säurekonzentration ab in ununterbrochener Reihe gefällt wird, zeigt das Lecithin zwei engbegrenzte Fällungszonen, bei $^{n}/_{200}$- und n-Lösung (Versuch Nr. 29).

Organische Säuren, wie die Weinsäure, zeigen ein analoges Verhalten, nur verschieben sich hier die Fällungszonen entsprechend ihrer geringeren elektrolytischen Dissoziationen nach der Seite der höheren Konzentration. Konzentrierte Mineralsäuren wirken auf Cholesterin ebenfalls fällend, soweit sie keine chemische Veränderungen bewirken. Lecithin wird von Eisessig klar gelöst.

Alkalien wirken auf Lecithin lösend, Cholesterin bleibt unter ihrer Einwirkung unverändert.

Die Neutralsalze wirken in mittleren Konzentrationen (ungefähr n-Lösung) teilweise fällend auf Lecithin, in hohen Konzentrationen wird die Fällung geringer oder bleibt gänzlich aus. Die Rhodanide, Jodide, Bromide und Nitrate, die in keiner Konzentration eine deutliche Fällung erzeugen, bewirken in konzentrierter Lösung eine Aufhellung der Lecithinsuspension. Die Magnesium salze, die hier noch einbezogen sind, erzeugen zwei durch einen großen Zwischenraum getrennte Fällungszonen.

Die Cholesterinsuspension wird von allen Salzen gefällt, der Schwellenwert liegt bei der Normallösung, nur das $MgSO_4$ fällt noch bei $^{n}/_{20}$-Lösung.

### *B. Wirkungsweise der Salze der Erdalkalien.*

**Tabelle IV.**

Je gleiches Volumen von 1,4 % Lecithinsuspension und Salzlösung.

| | Versuchs-Nr. | 33 | 34 | 35 | 36 |
|---|---|---|---|---|---|
| | Salz | $MgCl_2$ | $CaCl_2$ | $SrCl_2$ | $BaCl_2$ |
| Konzentration in Normallösung | Mit Salz in Substanz gesättigt | — | | | — |
| | n | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | n/2 | | | | +++ |
| | n/5 | — | ++ | ++ | +++ |
| | n/10 | | | | +++ |
| | n/20 | — | — | +++ | +++ |
| | n/40 | | | | +++ |
| | n/100 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | n/200 | | | | — |
| | n/500 | — | — | — | — |
| | n/1000 | | | | — |
| | n/2000 | — | — | — | — |

**Tabelle V.**

Je gleiches Volumen 0,2% Cholesterinsuspension und Salzlösung.

| | Versuchs-Nr. | 37 | 38 | 39 |
|---|---|---|---|---|
| | Salz | $CaCl_2$ | $SrCl_2$ | $BaCl_2$ |
| Konzentration in Normallösung | n | +++ | +++ | +++ |
| | n/5 | +++ | +++ | +++ |
| | n/20 | +++ | +++ | +++ |
| | n/100 | — | — | — |
| | n/500 | — | — | — |
| | n/2000 | — | — | — |

Die Salze der Erdalkalien erzeugen mit Ausnahme von $BaCl_2$ in den Lecithinsuspensionen zwei Fällungsbereiche, die durch eine schmale Zone fehlender Veränderung getrennt werden. Überdies hört die Fällung nach der Seite höchster Salzkonzentration zu auf, wie die Sättigung mit $MgCl_2$, $MgSO_4$ und $BaCl_2$ (Versuch Nr. 14, 15, 33, 36) ergibt. Die Mg-Salze schließen sich

## Tabelle VI.

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithinsuspension und Salzlösung.

| Vers.-Nr. | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Salz | $ZnCl_2$ | $ZnSO_4$ | $CdCl_2$ | $HgCl_2$ | $HgCy_2$ | $Pb(NO_3)_2$ | $CuSO_4$ | $AgNO_3$ | $AuCl_3$ | $(UO_2)(NO_3)_2$ | $MnCl_2$ | $Ko(NO_3)_2$ | $Fe_2Cl_6$ | $FeSO_4$ | $Al_2(SO_4)_3$ | $AlK(SO_4)_2$ |
| **Konzentration in Normallösung** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mit Salz in Substanz gesättigt | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 f. n | | | | | | | | | | | | | — | | | |
| n | +++ | — | — | | | +++ | ++ | +++ | | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | + | |
| n/5 | +++ | — | — | — | — | +++ | — | ++ | +++ | — | — | ++ | — | — | + | |
| n/20 | — | — | — | — | — | +++ | — | +++ | ++ | — | — | — | — | — | — | ± |
| n/100 | +++ | +++ | +++ | — | — | +++ | +++ | — | +++ | — | + | +++ | — | — | — | — |
| n/500 | — | — | — | — | — | +++ | — | — | — | — | +++ | — | — | — | — | — |
| n/2000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | +++ | — | — | +++ | +++ | — | — |
| n/4000 | | | | | | | | | | | | | | | — | ± |
| n/10000 | | | | | | | | | | | | | | | — | — |

## Tabelle VII.

Je gleiches Volumen 0,2 % Cholesterinsuspension und Salzlösung.

| | Vers.-Nr. | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Salz | $ZnSO_4$ | $CdCl_2$ | $HgCl_2$ | $Pb(NO_3)_2$ | $(UO_2)(NO_3)_2$ | $CuSO_4$ | $AgNO_3$ | $AuCl_3$ | $MnCl_2$ | $Ko(NO_3)_2$ | $Fe_2Cl_6$ | $A_2(SO_4)_3$ | $AlK(SO_4)_2$ |
| Konzentration in Normallösung | n. | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | +++ | $n/_3$ + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | $n/_5$ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | +++ | | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | $n/_{20}$ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | $n/_{100}$ | — | +++ | — | +++ | ++ | +++ | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| | $n/_{200}$ | | | | | | | | | | | | +++ | |
| | $n/_{500}$ | — | — | — | — | — | +++ | — | — | — | — | + | +++ | +++ |
| | $n/_{1000}$ | | | | | | | | | | | | +++ | +++ |
| | $n/_{2000}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | |
| | $n/_{10000}$ | | | | | | | | | | | — | — | +++ |

der Reihe der übrigen Erdalkalien an. Daraus ergeben sich zwei Fällungsmaxima, die ungefähr bei $^{n}/_{100}$-Lösung und n-Lösung gelegen sind. Die intermediäre Zone fehlender Fällung ist am breitesten bei den Mg-Salzen und nimmt ab in der Reihenfolge Ca, Sr, Ba, beim Ba verschwindet sie.

Das Cholesterin zeigt den Salzen der Erdalkalien gegenüber dasselbe Verhalten, wie wir es bei den Alkalimetallen kennen gelernt haben, nur ist die untere Fällungsgrenze niedriger.

$Ba(OH)_2$ wirkt auf Lecithinsuspension klärend, auf Cholesterin fällend.

*C. Wirkungsweise der Schwermetallsalze.* (s. Tabelle VI u. VII.)

Der Lecithinsuspension gegenüber zeigen die Schwermetallsalze eine ähnliche Mannigfaltigkeit wie die Salze der Erdalkalien. Die meisten fällen in zwei Zonen, die durch einen breiten Bereich fehlender Veränderung getrennt sind. Ein abweichendes Verhalten zeigen die Quecksilbersalze, die überhaupt nicht fällen, weiter das $ZnSO_4$ ($ZnCl_2$ fällt dagegen in zwei Zonen, und zwar im Bereich der stärkeren Konzentration unter ZnO-Bildung) und $CdCl_2$, die nur eine enge Fällungszone bewirken, weiter die Aluminiumsalze, die nur Trübungen geben. Das Pb $(NO_3)_2$ erzeugt eine einzige breite Fällungszone.

Die Cholesterinsuspension ist gegen Schwermetallsalze sehr empfindlich: die meisten Schwermetallsalze fällen schon von $^{n}/_{100}$-Konzentration ab. Das $Fe_2Cl_6$ erzeugt zwei getrennte Fällungszonen. $Fe_2Cl_6$ und die Aluminiumsalze haben den niedrigsten Schwellenwert. Hg-Salze geben hier wie bei Lecithin in keiner Konzentration Fällung.

### *D. Einfluß der Lipoidkonzentration auf die Ausfällung durch Salze.*

**Tabelle VIII.**

Je gleiches Volumen Suspension und Salzlösung.

| Suspension | Salz | Salzkonzentration | | | | | | | | Vers.-Nr. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | $^{n}/_{5}$ | $^{n}/_{20}$ | $^{n}/_{100}$ | $^{n}/_{500}$ | $^{n}/_{2500}$ | | | |
| Lecithin 2 % | $CaCl_2$ | + | — | — | + | + | — | | | 69 |
| „ 0,1 % | „ | + | — | — | + | — | — | | | |
| | | 3f. n | $^{n}/_{2}$ | $^{n}/_{5}$ | $^{n}/_{10}$ | $^{n}/_{20}$ | $^{n}/_{25}$ | $^{n}/_{30}$ | $^{n}/_{100}$ | |
| Lecithin 1 % | $(NH_4)_2SO_4$ | + | ± | + | + | ± | — | — | — | 70 |
| „ 0,1 % | „ | — | + | + | — | — | — | — | | |

### Tabelle VIII.

Je gleiches Volumen Suspensirn und Salzlösung.

| Suspension | Salz | Salzkonzentration | | | | | | | | Vers.-Nr. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | n/5 | n/20 | n/100 | n/500 | n/2000 | n/10 000 | n/50 000 | |
| Chol. 0,2 % | $FeCl_3$ | + | + | + | + | ± | + | — | | 71 |
| „ 0,02 % | „ | + | + | + | + | — | — | + | — | |
| | | n | n/5 | n/20 | n/100 | n/500 | n/2000 | n/4000 | n/10000 | |
| Chol. 0,2 % | $Al_2(SO_4)_3$ | + | + | + | + | + | + | — | — | 72 |
| „ 0,02 % | „ | + | + | + | + | + | + | ± | — | |

In zahlreichen Versuchen haben wir auch den Einfluß der Konzentration der verwendeten Suspensionen auf die Reaktionsverhältnisse untersucht. Tabelle VIII bringt einige diesbezügliche Versuche. Sie ergibt, daß beim Lecithin mit zunehmender Verdünnung der Suspension die Fällungszonen sich verschmälern. Etwas Ähnliches läßt sich auch bei der Cholesterinsuspension beobachten. Mit dreiwertigen Kationen haben verdünntere Lecithin- und Cholesterinsuspensionen niedrigere untere Fällungsgrenzen.

Schließlich konnten wir uns noch überzeugen, daß sämtliche Salzfüllungen des Lecithins reversibel, die des Cholesterins irreversibel sind.

## *E. Kombinierte Fällung von Salzen.*

### Tabelle IX.

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithinsuspension, NaCl- und $CaCl_2$-Lösung

| | Vers.-Nr. | 73 | 74 | 75 | 76 |
|---|---|---|---|---|---|
| | Konzentration der NaCl-Lösung in Normallösung | | | | |
| | | 6 fn | n | n/5 | — |
| Konzentration der $CaCl_2$-Lösung in Normallösung | n | — | +++ | +++ | +++ |
| | n/5 | — | +++ | ++ | ++ |
| | n/20 | — | +++ | +++ | — |
| | n/100 | — | +++ | +++ | +++ |
| | n/500 | — | +++ | — | — |
| | n/2000 | — | +++ | — | — |

### Anhang zu Tabelle IX.

Vers.-Nr. 77. 2 ccm Lecithinsuspension + 1,5 ccm aq dest. + 0,5 ccm $Na_2SO_4$-n-Lösung: Niederschlag-

„ 78. 2 ccm „ + 0,5 ccm aq. dest. + 0,5 ccm $Na_2SO_4$-n-Lösung + 1 ccm NaCyS 5fach-n-Lösung: Klärung der Suspension.

Vers.-Nr. 79. 2 ccm Lecithinsuspension + 1,5 ccm $Fe_2Cl_6$ 3fach-n-Lösung + 0,5 ccm $Na_2SO_4$-n-Lösung: Unverändert.

Im allgemeinen summiert sich die Wirkung der Salze, wie z. B. Versuchsnummer 74 zeigt. Eine Ausnahme von dieser Regel bildet bezüglich des Lecithins die Anwendung konzentrierter Salzlösung. Wie schon in den vorhergehenden Versuchen erwähnt war, erzeugen hohe Konzentrationen von gewissen Salzen eine Aufhellung oder vollständige Klärung der Lecithinsuspension oder aber die Suspension bleibt im Gegensatz zur fällenden Wirkung niedrigerer Salzkonzentrationen unverändert. Eine derartige Salzkonzentration verhindert auch die Wirksamkeit an sich fällender Mengen anderer Salze (Versuche Nr. 73, 77, 78, 79).

## *F. Wirkungsweise von Nichtelektrolyten und Kolloiden.*

### Tabelle X.

Je 2 ccm 1,4 % Lecithinsuspension und Normal-NaCl-Lösung; ½ ccm Traubenzuckerlösung.

| | Konzentration der Zuckerlösung in Prozenten. | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchs-Nr. 80 | 20 % | 10 % | 1 % | 1/10 % | 1/100 % | 0 % |
| | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |

### Tabelle XI.

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithinsuspension bzw. 0,2 % Cholesterinsuspension und Saponinlösung.

| | Konzentration der Saponinlösung | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchs-Nr. 81 | 4 % | 0,8 % | 0,2 % | 0,04 % | 0,008 % | 0,002 % |
| Lecithinsusp. | Klärung | Klärung | — | — | — | — |
| Cholesterinsusp. | ++[1]) | ++[1]) | + | — | — | — |

### Tabelle XII.

Je ein Teil 1,4 % Lecithinsuspension bzw. 0,2 % Cholesterinsuspension, ein Teil Saponinlösung und ½ Teil n/5-$CaCl_2$-Lösung.

| | Konzentration der Saponinlösung | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchs-Nr 82 | 4 % | 0,8 % | 0,2 % | 0,04 % | 0,008 % | 0,002 % | 0 % |
| Lecithinsusp. | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Cholesterinsusp. | ++[1]) | ++[1]) | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |

[1]) Niederschlag in Form eines fadenziehenden Gerinnsels.

## Tabelle XIII.

Je gleiches Volumen 2 % Lecithinsuspension, $n/_{100}$-$CaCl_2$-Lösung und verdünntes natives Pferdeserum.

| | Verdünnung des Pferdeserums | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchs-Nr. 83 | 1 | 1:5 | 1:10 | 1:100 | 1:1000 | 1:2500 | 1:∞ |
| | — | — | + | +++ | +++ | +++ | +++ |

## Tabelle XIV.

Je gleiches Volumen 0,03 % Cholesterinsuspension und Normal-NaCl-Lösung, ½ Volumen verdünntes natives Pferdeserum.

| | Konzentration des Pferdeserums. | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vers.-Nr. 84 | 1 | 1:10 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:100000 | 1:∞ |
| | — | — | — | — | ++ | +++ | +++ |

## Tabelle XV.

Je gleiches Volumen 1,4 % Lecithinsuspension bzw. 0,2 % Cholesterinsuspension und verdünntes dialysiertes (3 Tage gegen fließendes Wasser, 3 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert und filtriert) Pferdeserum.

| | | Konzentration des Pferdeserums. | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vers.-Nr. 85 | Zusatz | 1 | 1:5 | 1:20 | 1:100 | 1:500 | 1:2000 |
| Lecithinsuspension | 0 | — | — | — | — | — | — |
| Lecithinsuspension | 3 Tropfen n-NaCl-Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Cholesterinsuspension | 0 | +++ | — | — | — | — | — |
| Cholesterinsuspension | 3 Tropfen n-NaCl-Lösung | +++ | +++ | +++ | ++ | — | — |
| Cholesterinsuspension 0,02 % | 3 Tropfen n-NaCl-Lösung | — | — | +++ | +++ | +++ | — |

## Tabelle XVI.

Wie Tabelle XV, sauer reagierende Lecithinsuspension.

| | | Konzentration des Pferdeserums | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vers.-Nr. | Zusatz | 1 | 1:5 | 1:20 | 1:100 | 1:500 | 1:2000 |
| 86 | 0 | + | +++ | +++ | — | — | — |
| 87 | 3 Tropfen n-NaCl-Lösung | — | — | — | — | — | — |

## Tabelle XVII.

Lecithinsuspension 2 %, Cholesterinsuspension 0,2 %.

| Mischung | Konzentration der Salz- ($CaCl_2$- resp $BaCl_2$-) Lösung | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | n/5 | n/20 | n/100 | n/500 | n/1000 | Vers.-Nr. |
| 1 Teil Lec.-Susp + 1 Teil aq.dest. + 1 Teil $CaCl_2$-Lösung | + + + | — | — | + + + | — | — | 88 |
| 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil aq. dest. + 1 Teil $CaCl_2$-Lösung | + + + | + + + | + + + | — | — | — | 88 |
| 1 Teil Lec.-Susp. + 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil $CaCl_2$-Lösung | + + + | ± | ± | + + + | — | — | 88 |
| 1 Teil Lec.-Susp. + 1 Teil aq. dest. + 1 Teil $BaCl_2$-Lösung | + + + | + + + | + + + | + + + | — | — | 89 |
| 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil aq. dest. + 1 Teil $BaCl_2$-Lösung | + + + | + + + | + + + | — | — | — | 89 |
| 1 Teil Lec.-Susp. + 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil $BaCl_2$-Lösung | + + + | + + + | + + + | + + + | — | — | 89 |

## Tabelle XVIII.

Mastixsuspension (2 ½ % alkoholische Mastixlösung auf das 10fache mit destilliertem Wasser verdünnt), Lecithinsuspension 1,4 %, Cholesterinsuspension 0,2 %.

| Versuchs-Nummer 90 | Konzentration der Salzlösung ($NH_4Cl$) | | |
|---|---|---|---|
| Mischung | 3f.-n | n/5 | n/10 |
| 1 Teil Mastix-Susp. + 1 Teil aq. dest. + 1 Teil $NH_4Cl$ | + + | — | — |
| 1 Teil Lec.-Susp. + 1 Teil Mastixsusp. + 1 Teil $NH_4Cl$ | — | — | — |
| 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil Mastixsusp. + 1 Teil $NH_4Cl$ | + + | — | — |
| 1 Teil Chol.-Susp. + 1 Teil aq. dest. + 1 Teil $NH_4Cl$ | + + | | |

Traubenzucker verzögert in konzentrierter Lösung die Lecithinfällung durch Salze, sonst hat er keinen wahrnehmbaren Einfluß. Ähnlich verhalten sich auch andere Nichtelektrolyte. Harnstoff inkonzentrierter Lösung bewirkt eine Aufhellung der Lecithinsuspension. Saponin vermag, in hinreichender Konzentration angewendet, die Lecithinsuspension vollständig zu klären. Sonst wirkt es in keiner Konzentration auf Lecithin fällend, gibt dagegen mit

Cholesterin eigenartige Niederschläge, die wie zähe Gerinnsel am Boden der Reagensröhrchen haften. Eine hinreichend konzentrierte Saponinlösung vermag die Salzfällbarkeit der Lecithin- und Cholesterinsuspension aufzuheben (Versuche Nr. 81—82). Eiweiß in hohen Konzentrationen hebt die Salzfällbarkeit von Lecithin und Cholesterin auf. Genau neutralisiertes Serum fällt in mittleren Konzentrationen Cholesterinsuspension, läßt die Lecithinsuspension unverändert. Eine sauer reagierende, ältere Lecithinsuspension wurde durch dialysiertes Serum gefällt. (Versuch 83—87). Eisenoxydhydrat wie andere elektropositive Kolloide gibt mit Lecithin und Cholesterin eine Fällungszone, Mastixsuspension wirkt in keiner Konzentration fällend, scheint dagegen durch Lecithin vor der Salzfällung geschützt zu werden (Versuch Nr. 90).

Kombinationen von Lecithin- und Cholesterinsuspensionen werden von Salzlösungen gefällt, deren Konzentration zwischen den für die Fällung des Lecithins resp. Cholesterins allein nötigen Konzentrationen liegt (Versuche Nr. 88, 89).

## Besprechung der Resultate mit Bezugnahme auf die Physikochemie der Kolloide.

Wie bekannt, ist die Einwirkung der Elektrolyte auf Kolloide eine additive Eigenschaft der Salze. Wir müssen daher die Wirksamkeit von Anionen und Kationen getrennt verfolgen. Zunächst sollen die Lecithinversuche im Zusammenhang besprochen werden. Ordnen wir die Salze mit gleichem Kation, z. B. die Natriumsalze, hinsichtlich ihrer fällenden Wirkung auf Lecithin in eine Reihe, so erhalten wir nach absteigendem Fällungsvermögen die Reihenfolge:

$$SO_4 > C_2H_3O_2 > Fl > Cl > NO_3 > Br > J > CNS\,.$$

Die Fällungszone ist beim $Na_2SO_4$ am breitesten, wird bis zum NaCl eingeengt. $NaNO_3$ und NaBr machen in einem schmalen Bereich Trübungen, NaJ und NaCNS erzeugen überhaupt keine wahrnehmbare Fällung. Dagegen tritt bei NaCNS und NaJ in einer fünffach n-Lösung Aufhellung der Lecithinsuspension ein. Bei $NaNO_3$ erfolgt eine Aufhellung erst bei vollkommen gesättigter Lösung. Dieselbe Reihenfolge ergibt sich bei Verwendung anderer Kationen, z. B. des $NH_4$.

Wenn wir nach ähnlichen Erscheinungen Umschau halten, so finden wir für die Reihenfolge der Anionen in den von Hofmeister (3), sowie Pauli (4) bezüglich der Eiweißfällung ermittelten Gesetzmäßigkeiten[1]) vollständige Übereinstimmung. Hier ist die Reihenfolge der Anionen:

$$Fl > SO_4 > C_2H_3O_2 > Cl > NO_3 > Br > J > CyS .$$

Werden nach demselben Modus wie die Anionen die Kationen geordnet, so ergibt sich ebenfalls in Übereinstimmung mit der Eiweißfüllung für die Alkalimetalle die Reihe $Li > Na > NH_4 > K$, doch sind hier die Differenzen der Wirkungsstärke nicht so beträchtlich wie bei den Anionen.

Die Erdalkalien lassen sich in der Reihe Ba, Sr, Ca, Mg anordnen; in dieser Reihe verbreitert sich die Zone fehlender Fällung, die beim ersten Gliede Ba überhaupt nicht nachzuweisen ist. Der Abstand zwischen größter und geringster fällender Konzentration nimmt in dieser Reihenfolge zu. Die Reihenfolge der Ionen stimmt auch hier mit der Eiweißreihe von Pauli überein. Ein bemerkenswerter Unterschied im Vergleich zu der Eiweißfällung liegt in der niedrigen unteren Fällungsgrenze der Erdalkalien, die an die Reaktionen der sogenannten Suspensionskolloide (s. später) erinnert.

Die Schwermetallsalze haben bezüglich ihres Fällungsvermögens verschiedenartige Typen. Eine Gruppierung verschiedener Salze mit gleichem Anion war wegen geringer Löslichkeit vieler Salze unmöglich. Werden die im periodischen System zusammengehörigen Kationen nach dem Atomgewicht zusammengestellt, so ergibt sich eine Aufeinanderfolge, die eine Steigerung oder einen Abfall der fällenden Eigenschaften zeigt, wie denn auch die Reihen der Alkali- und Erdalkalisalze eine Zunahme bzw. Abnahme des Atomgewichtes aufweisen. So läßt sich in der Reihe Cu, Ag, Au eine Einengung der intermediären Zone fehlender Fällung erkennen; Zn, Cd, Hg besitzen nur ein geringes Fällungsvermögen, das beim Hg gänzlich verschwindet.

Während nun die Reihenfolge der Ionen mit den bei der Eiweißfällung beobachteten Gesetzmäßigkeiten große Ähnlichkeit

[1]) Dieselbe Reihenfolge ist übrigens für eine Anzahl anderer durch Salze beeinflußbarer physikalisch-chemischer Prozesse gefunden worden. Ausführl. hier in Höbers „Physik. Chem." usw.

zeigt, ergeben sich in der Erscheinung der Fällungsmaxima- und -Minima namentlich bei den Salzen der Alkalien und Erdalkalien Verhältnisse ganz eigener Art.

Von ganz besonderem Interesse ist namentlich die Fällungshemmung und lösende Wirkung konzentrierter Salzlösungen. Eine teilweise vergleichbare Erscheinung ist vielleicht die von Pauli (4) studierte Fällungskurve von Säureeiweiß durch Alkalisalze. Eine Erklärungsmöglichkeit ließe sich auch am ehesten aus gewissen Beobachtungen ableiten, die Pauli (4) bei der Salz-Eiweißfällung gemacht hat. Pauli fand, daß die durch manche Salze verursachte Eiweißfällung durch Rhodansalze gehemmt werden kann. Auf Grund dieser Versuche sieht er die Salzwirkung auf Eiweiß als Interferenz fällender Kationen und lösender Anionen an. Dieser Theorie zufolge müßten wir demnach annehmen, daß in unseren Fällen von einer bestimmten Konzentration ab der lösende Effekt des Anions überwiegt.

Ein trennendes Merkmal zwischen Lecithin- und Eiweißfällung bildet weiter das Verhalten der Mg-Salze, die sich beim Eiweiß in ihrer Wirkung an die Alkalien, bei der Lecithinsuspension an die Erdalkalien anschließen.

Eigenartig ist auch das Verhalten von $(NH_4)_2SO_4$ und $NaSO_4$, die in höchster Konzentration eine zweite Lecithinfällung zu erzeugen vermögen, die in ihrer Erscheinungsform sich von den sonstigen Fällungen unterscheidet, da sie sofort zur Flockenbildung führt. Vielleicht ist erst diese Art von Fällung mit der Aussalzung der Eiweißkörper zu analogisieren.

Hier ist auch der Ort, unsere Resultate mit den Versuchen von W. Koch (1) zu vergleichen. Koch findet, daß die Salze der Alkalien Lecithin in keiner Konzentration fällen, dagegen die fällende Wirkung der zweiwertigen Metalle hemmen. Sein abweichender Befund dürfte sich vielleicht dahin erklären, daß er nur konzentrierte Salzlösungen zur Untersuchung herangezogen hat, weshalb ihm die verschiedenen Fällungszonen entgangen sind; möglicherweise läßt auch das von ihm verwendete Lecithinpräparat die Fällungszonen nicht in Erscheinung treten. Daß es sich hier übrigens nicht um einen Antagonismus zwischen ein- und zweiwertigen Ionen handelt, geht daraus hervor, daß z. B. konzentrierte $MgSO_4$-Lösung die Fällung mit $BaCl_2$ hemmen kann und umgekehrt.

Einer besonderen Erörterung bedarf noch das Auftreten intermediärer Zonen fehlender Fällung zwischen zwei Fällungsbereichen. Ähnliche Erscheinungen sind wohl bei Schwermetallsalzwirkungen, nirgends aber bei Kolloidreaktionen mit Salzen der Alkali- und Erdalkalimetalle beobachtet worden. So führt Pauli (7) als Beispiel für einen derartigen Typus die Zinksulfat-Eiweißfällung an, wobei er die erste Fällung mit der Wirksamkeit von kolloidalem Metallhydroxyd in Zusammenhang bringt, die zweite Fällung nach dem Typus der Alkalimetallsalzwirkung auffaßt. In dieser Art ist in unseren Versuchen vielleicht die Wirkungsweise einiger Schwermetallsalze zu deuten; wie diesbezüglich z. B. die Reaktion der Magnesiumsalze theoretisch auseinanderzusetzen ist, müssen wir künftigen Untersuchungen überlassen.

Endlich sei noch mit einigen Worten die Reaktion der Schwermetallsalze besprochen. Unsere Versuche ergeben hier vier Typen:

1. zwei durch eine Zone getrennte Fällungen (Cu, Ag, Au, Fe, Mn, Ko, $UO_2$);
2. eine breite Fällungszone, die durch Zusammentreffen zweier Zonen von Typus 1 entstanden ist ($PbNO_3$);
3. eine dem unteren Fällungsbereiche von Typus 1 entsprechende Fällungszone ($ZnSO_4$, $CdCl_2$);
4. nicht fällende Salze (Hg, Al).

Zwischen diesen Typen dürften zweifellos Übergänge sich finden lassen. Ähnliche Fällungsformen hat Pauli (7) bezüglich der Schwermetallsalz-Eiweißfällung beschrieben. So entspricht Typus 1 der Eiweißfällung mit $ZnSO_4$, Typus 2 der mit $AgNO_3$, Typus 3 der mit $CuSO_4$. Ein ganz exzeptionelles Verhalten zeigen nur die Hg-Salze. Eine analoge Erscheinung ist schon von Bechhold (5), sowie Neisser und Friedemann (14) bezüglich der Mastixsuspension beschrieben worden. Bechhold bezieht die Wirkungslosigkeit des $HgCl_2$ auf seine geringe elektrolytische Dissoziation, eine Anschauung, der sich auch Höber (9) anschließt. Indessen ist es doch mit vielen Tatsachen unvereinbar, die Ionen für Schwermetallsalzfällungen verantwortlich zu machen [vergleiche die Ausführungen von Pauli (7)]; es hat sich immer mehr die Auffassung geltend gemacht [Biltz (6), Neisser und Friedemann (14)], daß das kolloidale Metallhydroxyd des hydrolytisch dissoziierten Salzes das wirksame Agens darstellt. Zum Beispiel wäre nach der Auffassung Bech-

holds nicht zu verstehen, warum Eiweiß durch Quecksilbersalze gefällt wird. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre die von Overton nachgewiesene Lipoidlöslichkeit des Sublimats, indessen verhält sich das ätherunlösliche $HgCy_2$ in unseren Versuchen ebenso wie $HgCl_2$.

Die Cholesterinreaktionen sind viel einförmiger. Was zunächst die Wirkungsweise der Anionen betrifft, lassen sich hier keine Differenzen feststellen. $Na_2SO_4$, $CH_3COONa$, NaCl, $NaNO_3$, NaBr, NaJ, NaCyS haben alle nahezu denselben Schwellenwert. Von den Kationen haben die Alkalimetalle einen hohen Schwellenwert (n-Lösung), $NH_4$ scheint etwas kräftiger zu fällen als K und Na. Die zweiwertigen Erdalkalien fällen von der $^n/_{20}$-Lösung ab. Von den Schwermetallsalzen haben die dreiwertigen Fe und Al weitaus das stärkste Fällungsvermögen. Bei der Fe-Fällung ist auch eine intermediäre Zone ausbleibender Fällung zu beobachten. Die übrigen fällen von der $^n/_{500}$—$^n/_{20}$-Lösung an, nur das Quecksilber ist hier wie beim Lecithin wirkungslos, das $AuCl_3$ fällt bei der höchsten erreichbaren Konzentration nur in Spuren.

Wenn wir in der Kolloidchemie nach Kolloiden Umschau halten, deren Salzfällung ähnlich verläuft wie beim Cholesterin, so können wir die Suspensionskolloide von anodischer Konvektion zum Vergleiche heranziehen. Für die Fällung dieser Kolloide kommen, wie die Untersuchungen von Schultze (10), Freundlich (11), Hardy (12), Linder und Picton (13), Neisser und Friedemann (14), Bechhold (5), Biltz (6) u. a. gezeigt haben, die Eigenschaften der Kationen in Betracht, vor allem ihre Valenz, ihre elektrolytische Lösungstension, die hydrolytische Dissoziation ihrer Salze. Wenn wir die einzelnen Salze nach dem Schwellenwerte ihres Ausflockungsvermögens aneinanderreihen, so erhalten wir eine Folge, die z. B. mit der von Bechhold, sowie Buxton und Shaffer (15) für die Mastixausflockung ermittelten gut übereinstimmt, wie nachstehende Zusammenstellung lehrt.

| Salz | Cholesterinsuspension | Mastixemulsion |
|---|---|---|
| NaCl | 1000[1] | 1000 (500)[2] |
| $NaNO_3$ | 1000 | (500) |

[1]) Die Zahlen beziehen sich auf den Ausflockungsschwellenwert in Milligrammäquivalenten.

[2]) Die eingeklammerten Werte sind von Buxton und Shaffer ermittelt.

| Salz | Cholesterinsuspension | Mastixemulsion |
|---|---|---|
| $Na_2SO_4$ | 1000 | (500) |
| KCl | 1000 | (250) |
| $NH_4Cl$ | 1000 | (250) |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 250 | — |
| $MgSO_4$ | 50 | 100 (50) |
| $CaCl_2$ | 50 | 50 (25) |
| $BaCl_2$ | 50 | 50 (33) |
| $AgNO_3$ | 50 | 125 (30) |
| $ZnSO_4$ | 50 | 100 (10) |
| $Ko(NO_3)_2$ | 50 | 50 (30) |
| $MnCl_2$ | 50 | — |
| $CdCl_2$ | 10 | — |
| $CdSO_4$ | — | 25 |
| $PbNO_3$ | 10 | 5 (2,5) |
| $UO_2(NO_3)_2$ | 10 | — |
| $CuSO_4$ | 2 | 10 (5) |
| $FeCl_6$ | 0,5 | 1 (0,25) |
| $Al_2(SO_4)_3$ | 0,5 | 0,5 (0,085) |
| $AlK(SO_4)_2$ | 0,1 | — |
| HCl | 10 | 10 (2) |
| Acid. tartar. | 50 | — |
| $HgCl_2$ | ∞ | ∞ |
| $HgCy_2$ | ∞ | |

Über das exzeptionelle Verhalten des $HgCl_2$ wäre dasselbe anzuführen wie in den Versuchen mit Lecithinsuspensionen; das Goldchlorid endlich wurde in Berührung mit Cholesterin reduziert, so daß für seine Wirkungslosigkeit die chemische Veränderung verantwortlich zu machen sein dürfte.

Was schließlich die Säurefällbarkeit und Alkalilöslichkeit der Lecithin- und Cholesterinsuspensionen anlangt, so beweist sie ihre anodische Konvektion; das Cholesterin verhält sich hier wie ein anodisches anorganisches Kolloid, das Lecithin wie ein saurer Eiweißkörper, der vom Überschuß der Säure umgeladen wird, etwa wie Mucin. Die zweite Fällungszone bei n-HCl findet allerdings keine Analogie.

Die Verdünnung der Suspensionen hat, wie aus den Versuchen zu ersehen ist, zum Teil eine Steigerung, zum Teil eine

Herabsetzung des Schwellenwertes der Salze, allemal aber eine Einengung der Fällungszonen zur Folge. Diese Tatsachen gehen mit analogen Erscheinungen bei der Salzfällung von Eiweißkörpern und anorganischen Kolloiden parallel, speziell die mit der Verdünnung steigende Fällungsgrenze der Lecithinsuspensionen erinnert an die Aussalzung der Proteine, während das Verhalten der Cholesterin-Eisenchloridfällung die Gesetze der Salz-Kolloidfällung vieler anorganischer Kolloide, sowie der Schwermetall-Eiweißfällung erkennen läßt. Ebenso erinnert die Reversibilität der Lecithinfällungen an die Aussalzung der Proteine, die Irreversibilität der Cholesterinflockungen an das Verhalten instabiler Kolloide und Suspensionen.

Die Salzversuche gestatten als Endergebnis ein Urteil über die Zugehörigkeit der Lecithin- und Cholesterinsuspensionen im System der Kolloide. Höber gibt in der neuen Auflage seines Lehrbuches eine Einteilung, die alle Schwierigkeiten zu beseitigen scheint, welche sich einer systematischen Ordnung der Kolloide bisher in den Weg stellten. Er scheidet die Kolloide, deren Lösung die innere Reibung des Lösungsmittels erhöht, von solchen, die dieselbe unbeeinflußt lassen, und benennt die ersteren hydrophile Kolloide, die letzteren Suspensionskolloide. Die hydrophilen Kolloide, die schon einen Übergang zu den echten Lösungen bilden, besitzen nur im geringen Grade die Eigenschaft der Kataphorese [wie Pauli (16) zuerst nachgewiesen hat, ist sorgfältig dialysiertes Eiweiß elektrisch neutral], ihre Lösungen werden meist erst von hohen Salzkonzentrationen gefällt, für das Fällungsvermögen der einzelnen Salze sind beide Ionen von Belang. Die Suspensionskolloide besitzen dagegen eine ausgesprochene elektrische Ladung, sie sind gegen Salze viel empfindlicher als die hydrophilen Kolloide, die Fällung wird durch dasjenige Ion verursacht, welches die entgegengesetzte elektrische Ladung trägt, wie das zu fällende Kolloid. Die Lecithinsuspension ist nun nach den in unsern Versuchen mit Alkalimetallsalzen beleuchteten Eigenschaften den hydrophilen Kolloiden zuzurechnen, an die schon die Quellbarkeit und Benetzbarkeit des Lecithins erinnert.[1]) Das Cholesterin verhält sich wie ein typisches Suspensionskolloid.

[1]) Die hohe Empfindlichkeit für Salze der Erdalkalien ist allerdings bereits eine Eigenschaft anodischer Suspensionskolloide.

Nichtelektrolyte, wie Zucker, Harnstoff u. a., vermögen in keiner Konzentration Lecithin- und Cholesterinsuspension zu fällen, was mit ihrem Verhalten gegen andere Kolloide übereinstimmt. Die gelegentlich beobachtete Aufhellung der Lecithinsuspension durch konzentrierte Harnstofflösung ist vielleicht analog einer Lösung durch Alkoholzusatz aufzufassen, da Harnstoff für Lecithin ein besseres Lösungsmittel darstellt als Wasser.

Ebenso ist die Reaktion des Lecithins und Cholesterins mit anderen Kolloiden prinzipiell in keiner Weise von den bei derartigen Prozessen beobachteten Erscheinungen unterschieden. Wie bekannt, reagieren zwei Kolloide miteinander bei einem gewissen optimalen Mengenverhältnis unter Ausflockung, wobei es zu einer elektrischen Neutralisierung kommt, da nur entgegengesetzt geladene Kolloide zur Wechselwirkung gelangen [Linder und Picton (8), Hardy (12), Biltz (6), Bechhold (5) u. a.]. Ist dagegen das eine Kolloid im Überschuß vorhanden, so überwiegt seine Wirksamkeit um so mehr in dem mit dem anderen Kolloide gebildeten Reaktionsprodukt, je ungleicher das Mengenverhältnis ist. Daher erklärt es sich, daß das an Menge zurücktretende Kolloid gewissermaßen die Fällungsreaktionen des überwiegenden Kolloides teilt. Auf derartigen Einflüssen beruht die Erscheinung der sog. Schutzwirkung der Kolloide, wie auch die Übertragung erhöhter Empfindlichkeit gegen Fällungsmittel.

In unserem Falle zeigt Lecithin- und Cholesterinsuspension mit kathodischen Kolloiden die typische Reaktion, nämlich Fällung bei einem optimalen Mengenverhältnis. Elektronegatives Mastix reagiert mit Cholesterin nicht, vermutlich weil beide elektronegativ geladen sind, durch Lecithin wird es vor der Salzfällung geschützt. Mit Saponin bilden beide Substanzen Kolloidverbindungen. Unsere Versuche vermögen hier ältere Befunde von Kobert (17) zu vervollständigen und aufzuklären. Kobert hatte ermittelt, daß die Säurefällbarkeit des Lecithins durch eine gewisse Menge von Saponin aufgehoben werden kann, wogegen das Cholesterin mit Saponin eine durch $(NH_4)_2SO_4$ fällbare Verbindung gab. Diese Erscheinungen werden nun durch unsere Versuche gewissermaßen als Ausschnitt einer Reaktionsreihe zweier Kolloide charakterisiert. Denn Saponin im Überschuß wirkt für Lecithin als Schutzkolloid, kann es also vor Fällung im allgemeinen oder im speziellen Falle vor Fällung durch Säure (in unserem Falle durch $CaCl_2$) schützen.

Dasselbe zeigt sich bezüglich der Wechselwirkung zwischen Saponin und Cholesterinsuspension. Eine Fällungsreaktion zwischen Saponin und Lecithin war nicht zu beobachten, wohl wegen der hochgradigen Stabilität beider Kolloide. Dagegen war eine eigenartige Niederschlagsbildung zwischen Saponin und Cholesterin in bestimmten Mengenverhältnissen zu erkennen. Daß bei Überschuß von Cholesterin die Cholesterin-Saponinverbindung salzfällbar wird, beruht wieder auf dem oben erörterten allgemeinen Gesetze der Übertragung erhöhter oder herabgesetzter Empfindlichkeit durch ein überschüssiges Kolloid auf das an Menge zurücktretende.

Die Aufhellung der Lecithinsuspension durch Saponin ist ein Vorgang, für den wir in der Kolloidchemie keinerlei Analogien aufgefunden haben. Die Wirkung des Saponins läßt sich hier höchstens noch mit der solbildenden Eigenschaft mancher Elektrolyte, für die unsere Versuche in der Reaktion zwischen Lecithin und konzentrierten Lösungen von Jodiden, Bromiden und Rhodaniden ein Beispiel geben, vergleichen.

Die Wechselwirkung zwischen Eiweiß und Lecithin-, sowie Cholesterinsuspension gleicht ebenfalls typischen Kolloidreaktionen. Die Einwirkung von Eiweiß auf Lecithin geht aus seiner Schutzwirkung gegenüber fällenden Elektrolyten hervor; zu einer gegenseitigen Ausflockung zwischen Eiweiß und Lecithin kommt es nicht, wohl infolge der hochgradigen Stabilität beider Kolloide. Das Suspensionskolloid Cholesterin wird dagegen von Eiweiß wie alle Suspensionskolloide [Friedemann (18)] in bestimmten Mengenverhältnissen bei neutraler Reaktion leicht gefällt. Natives Serum fällt nicht wegen seines Alkaligehaltes, dagegen ist dialysiertes Serum mit und ohne Salz wirksam.

Endlich bilden Lecithin und Cholesterin miteinander eine Kolloidverbindung, wie aus der Schutzwirkung des Lecithins für Cholesterin hervorgeht.

## Besprechung der Resultate mit Bezugnahme auf biologische Fragen.

Wie schon erwähnt, spielen die Lipoide in vielen biologischen Problemen eine wichtige Rolle. Welche Anwendung können nun die von uns aufgedeckten Verhältnisse erfahren?

Zunächst dürften die dargelegten Reaktionen zwischen Lecithin und Elektrolyten geeignet sein, die Wirkungsweise der

Salze im Organismus dem Verständnis näher zu bringen. Bezüglich der Einwirkung der Salze auf Zellen und Gewebe liegt ein großes Tatsachenmaterial vor, das sich nur teilweise unter einheitliche Gesichtspunkte zusammenordnen läßt. Höber (9, 19) hat es unternommen, die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen auf ein einfaches Prinzip zurückzuführen, indem er den Angriffspunkt der Salze in die Kolloide der sogenannten Plasmamembran verlegt. Von den Einzelbeobachtungen, die der Höberschen Hypothese zur Stütze dienen, seien hier nur die grundlegenden Versuche von Overton und von Meyer angeführt[1]), die gezeigt haben, daß die Permeabilität der Zelle durch die Lipoide beherrscht wird, daß lipoidunlösliche Substanzen, zu denen die meisten Salze gehören, in das Innere der Zelle nicht einzudringen vermögen, woraus sich schon die Peripherie der Zelle als Angriffspunkt der Salze ergibt. Höber denkt sich nun die Zelle von einer Membran aus Eiweiß und Lipoiden umgeben und bezieht die mannigfachen Salzwirkungen auf physikalisch-chemische Zustandsänderungen dieser Kolloide. In der Tat hatte sich nun gezeigt, daß die Wirksamkeit der einzelnen Salze in vielen Fällen mit ihrem Vermögen, Eiweißkörper auszusalzen, parallel geht, derart, daß die von Hofmeister und Pauli festgestellte Aufeinanderfolge der Ionen nach ihrem Eiweißfällungsvermögen sich in ihrem Einfluß auf Erregbarkeit und Kontraktionsvermögen von Muskeln, auf die Reizbarkeit von Nerven, auf das Auftreten und die Richtung des Ruhestromes usw. wiederfindet, wie die Untersuchungen von Grützner (20) und seiner Schüler (21, 22), von Overton (23), Mathews (25), Höber (19), Schwarz (24) u. a., lehren. Unter dem Einflusse dieser Tatsachen würde man geneigt sein, die Eiweißkörper als dominierenden Bestandteil der Plasmamembran anzusprechen, was aber mit ihrer Impermeabilität für lipoidunlösliche Substanzen im Widerspruch steht. Unsere Untersuchungen haben nun dieselbe Reihenfolge im Fällungsvermögen der Ionen nachgewiesen, wie sie von Hofmeister und Pauli für die Eiweißfällung, von den oben erwähnten Autoren für eine Anzahl von biologischen Erscheinungen beobachtet wurde, so daß man als Angriffspunkt der Salzwirkung das Lecithin der Plasmamembran ansehen kann.

---

[1]) Ausführliches ist in Höbers „Physikal. Chemie der Zelle und Gewebe“ zu finden; hier auch die gesamte Literatur.

Mit dieser Annahme würde es auch übereinstimmen, daß im biologischen Verhalten das Magnesiumion sich wie bezüglich der Lecithinfällung, der Wirkungsweise der andern Erdalkalien anschließt, während es mit Rücksicht auf die Eiweißfällung den Alkalimetallen zugeordnet sein müßte.

Höber macht weiter die Annahme, daß unter dem Einflusse von Agenzien, die Zustandsänderungen der Plasmamembrankolloide herbeiführen, die Permeabilität der Zelle Veränderungen erfährt.

Die von uns charakterisierte physikalisch-chemische Beschaffenheit des Lecithins dürfte dieser Theorie als wichtige Stütze dienen, denn während das Lecithin an sich infolge seiner hydrophilen Beschaffenheit Wasser und darin gelösten Substanzen den Durchtritt gewähren mag, scheint es in der Zelle unter der Einwirkung der Salze in einer verdichteten Zustandsform zu bestehen, die sich mit Wasser nicht benetzt und für lipoidunlösliche Substanzen undurchgängig ist. Es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß diese Zustandsform durch verhältnismäßige geringfügige Änderungen der Zusammensetzung des umgebenden Mediums Modifikationen erleidet, die eine veränderte Permeabilität nach sich ziehen. Eine derartige Funktion wäre von der größten Wichtigkeit für die Aufnahme von Nährstoffen, die, wie bekannt, zum großen Teil lipoidunlöslich sind. Eine wesentliche Bedingung für die physiologische Bedeutung derartiger Zustandsänderungen mag die Reversibilität der Lecithinfällungen sein. Weitere Versuche unter Anwendung von Salz- und Kolloidgemengen müssen die Berechtigung derartiger Vorstellungen prüfen. Soviel läßt sich jedenfalls sagen, daß die Salze die für das Lecithin wirksame Konzentration im Organismus tatsächlich erreichen, daß wir hier also mit mehr Berechtigung physikalisch-chemische Zustandsänderungen für physiologische Erscheinungen verantwortlich machen, als es unter der Annahme, daß das Eiweiß das betroffene Kolloid sei, geschah, da die in den Geweben vorhandenen Salzkonzentrationen weit unterhalb der Fällungsgrenze für Eiweiß liegen.

Vielleicht bringen unsere Versuche auch eine Erklärungsmöglichkeit für die bekannten von Löb entdeckten Erscheinungen des Ionenantagonismus. Direkte Beziehungen lassen sich allerdings einstweilen nicht ableiten.

Das Vermögen konzentrierter Lösungen mancher Salze, die Lecithinsuspension aufzuhellen, dürfte die Ursache ihrer hämolysierenden Wirksamkeit in hypertonischer Lösung sein; denn hämolysierende und lecithinlösende Wirkung geht bei den einzelnen Salzen vollständig parallel. Die beobachtete Aufhellungswirkung kann wohl auch eine Handhabe liefern, die Wirkungsweise von blutlösenden Substanzen dem Verständnis näher zu bringen. So hat auch das Blutgift Saponin, weiter auch der Harnstoff in blutlösenden Konzentrationen eine lecithinklärende Wirkung. Wir beabsichtigen diesbezüglich noch andere blutlösende Agenzien in den Bereich unserer Untersuchung zu ziehen.

Die Reaktion zwischen Lecithin und Eiweiß charakterisiert die Zustandsform, die dem Lecithin in den Gewebssäften zukommt.

Die Fällbarkeit des Cholesterins ist für die Entstehung der Cholesterinkonkremente im Organismus von Interesse. Bemerkenswert ist namentlich die Bildung der Eiweiß-Cholesterinniederschläge, deren Entstehung im Organismus nur an die Neutralisierung des in den Gewebssäften vorhandenen Alkalis gebunden wäre.

Ein weiteres Gebiet, auf das unsere Versuche Bezug haben, ist die Frage der Zucker-Lecithinverbindungen, die in der Hypothese vom kolloidalen Blutzucker eine große Rolle spielen. Wie unsere Versuche ergeben haben, ist der Traubenzucker für die Zustandsform des Lecithins ohne Einfluß; die von Bing dargestellten Lecithin-Zuckerverbindungen dürften daher nur Gemenge sein.

Die Eigenschaft des Lecithins, an sich ätherunlösliche Substanzen (in diesem Falle Zucker) in ätherische Lösung überzuführen, dürfte auf seiner Fähigkeit beruhen, als hydrophiles Kolloid Wasser zu binden und auf diese Art Wasser und wasserlösliche Substanzen in den Äther mitzuziehen. Wir verfügen bereits über zahlreiche Versuche, die die Zustandsänderungen der alkoholischen und ätherischen Lecithin- und Cholesterinlösungen zum Gegenstande haben und für die eben berührten Fragen von Bedeutung sind; sie sollen der Inhalt einer weiteren Mitteilung sein.

Endlich ergaben sich durchsichtige Beziehungen zwischen Lecithinfällung bzw. Lösung und Einwirkung der Salze auf überlebende Zellen und Gewebe, wie aus dem Vergleich mit den Untersuchungen von Deetjen (27), Mayr (28) u. a. hervorgeht.

Verlockend wäre es auch, die biologische Wirksamkeit der Jodsalze mit unsern Versuchen in Zusammenhang zu bringen, die Berechtigung solcher Vorstellungen soll noch experimentell geprüft werden.

---

## Literatur.


1) W. Koch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 181, 1903.
2) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere. Tübingen 1901.
3) Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **28**, 210, 1891.
4) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 227, 1902 u. **5**, 27, 1904.
5) Bechhold, Zeitschr. f. physikal. Chem. **48**, 406, 1904.
6) Biltz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 1095, 1904.
7) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 232, 1905.
8) Linder und Picton, Journ. of the chem. Soc. **71**, 572, 1897.
9) Höber, Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig 1906.
10) Schultze, Journ. f. prakt. Chem. **25**, 431, 1882.
11) Freundlich, Zeitschr. f. physikal. Chem. **44**, 135, 1905.
12) Hardy, Journ. of Physiol. **24**, 288, 1899.
13) Linder und Picton, Journ. of the chem. Soc. **67**, 63, 1895.
14) Neisser und Friedemann, Münch. med. Wochenschr. **1904**, 827.
15) Buxton und Shaffer, Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 47, 1906.
16) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 531, 1906.
17) Kobert, Zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.
18) Friedemann, Arch. f. Hygiene **55**, 361, 1905.
19) Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 599, 1905.
20) Grützner, Arch. f. d. ges. Physiol. **53**, 83, 1893; **58**, 69, 1894.
21) Weinland, Arch. f. d. ges. Physiol. **58**, 105, 1894.
22) Blumental, Arch. f. d. ges. Physiol. **62**, 513, 1896.
23) Overton, Arch. f. d. ges. Physiol. **105**, 176, 1904.
24) Schwarz, Arch. f. d. ges. Physiol. **117**, 161, 1907.
25) Mathews, American journ. of physiol. **11**, 455, 1904.
26) Bing, Skandinav. Arch. f. Physiol. **9**, 336, 1899.
27) Deetjen, Berl. klin. Wochenschr. **1904**, Nr. 16.
28) Mayr, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 548, 1906.


---

# Über die bei der Eiweißfäulnis auftretenden Fettsäuren sowie über die optisch-aktive Valeriansäure und Capronsäure.

Von

C. Neuberg und E. Rosenberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 12. September 1907.)*

Gelegentlich früherer Untersuchungen über die Entstehung optisch-aktiver Fettsäuren in der Natur haben wir mitgeteilt[1]), daß die bei der Fäulnis der Proteinstoffe gebildeten Fettsäuren ein optisches Drehungsvermögen aufweisen. Dieser Befund ist nicht nur von erheblicher Wichtigkeit für die Frage nach der Entstehung des bekanntlich ebenfalls mit optischer Aktivität ausgestatteten Erdöles, sondern hat ein allgemeineres biologisches Interesse.

Wie wir schon vor $1^1/_2$ Jahren betont haben, sind namentlich Valeriansäure und Capronsäure unter den Fäulnissäuren die Träger des optischen Drehungsvermögens. Bei der Darstellung dieser Säuren in größerem Maße haben wir nun eine Reihe von Beobachtungen gemacht, welche die bisherige Kenntnis der bei der Eiweißfäulnis gebildeten Substanzen sowie des Vorganges selbst in wesentlichen Punkten erweitern[2]).

So findet man in den Lehrbüchern vielfach die Behauptung, daß die bei der Eiweißfäulnis auftretenden Fettsäuren die normale Struktur besäßen. Dieser Annahme haben wir schon früher[1]) widersprochen.

Bei der Fäulnis von Proteinstoffen treten die flüchtigen Fettsäuren von der Ameisensäure bis zur Capronsäure auf. Sie sind

---

[1]) C. Neuberg, Über die Entstehung optisch-aktiver Fettsäuren in der Natur. Diese Zeitschr. 1, 368, 1906.

[2]) Eine vorläufige Mitteilung hierüber befindet sich in dem Sitzungsbericht der Kgl. Preußischen Akademie der Wissenschaften vom 26. Mai 1907 in der Veröffentlichung von C. Neuberg, Künstliche Darstellung von optisch-aktivem Petroleum.

jedoch keineswegs stets in reinem Zustande isoliert, und bei der Schwierigkeit, mit der sie von einander zu trennen sind, bedurften die wenigen vorhandenen Angaben über die Struktur dieser Säuren dringend der Nachprüfung.

Die Annahme[1]), daß diesen Säuren zumeist eine unverzweigte Kohlenstoffkette zukomme, ist schon von vornherein außerordentlich unwahrscheinlich, wenn man die Bildungsweise dieser Substanzen in Betracht zieht. Es besteht das Wesen der Fäulnis in einer primären Hydrolyse der Eiweißkörper und in sekundären Veränderungen der Spaltungsprodukte, die hauptsächlich einmal auf Desamidierung, das andere Mal auf Kohlensäureabspaltung beruht. Die letztgenannte Art der Veränderung erleiden vorwiegend die stark basischen Eiweißspaltungsprodukte, die Diaminosäuren, z. B. das Lysin (Ellinger):

$$CH_2NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \rightarrow CO_2 + CH_2NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2.$$

Der Vorgang der Desamidierung dagegen tritt hauptsächlich bei den Monoaminosäuren, sowohl bei den aliphatischen als aromatischen und heterozyklischen, zutage.

So wird Alanin zu Propionsäure

$$CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \rightarrow CH_3 \cdot CH_2 \cdot COOH,$$

Phenylalanin zu Phenylpropionsäure

$$C_6H_5CH_2 \cdot CH\,NH_2 \cdot COOH \rightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$$

und Tryptophan (Indolaminopropionsäure, Indylalanin) zu Indolpropionsäure (Nencki, E. und H. Salkowski, Hopkins und Cole)

$$C_8H_6N{-}C - CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \longrightarrow C_8H_6N{-}C - CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH.$$

(Indolring mit NH)

Überträgt man dieses Schema auf die übrigen im Eiweiß enthaltenen aliphatischen Monoaminosäuren, so ist ohne weiteres klar, daß Valeriansäuren und Capronsäuren mit verzweigten Kohlenstoffketten vorhanden sein müssen, da die ihnen entsprechenden im Eiweiß präformierten Aminosäuren, die Aminovaleriansäure wie die Aminocapronsäure, keine geradlinige Kohlenstoffkette aufweisen.

[1]) Siehe hierüber Beilstein usw.

$$\begin{array}{c} CH_3\ CH_3 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CH\cdot NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} CH_3\ CH_3 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \qquad \begin{array}{c} CH_3\ CH_3 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} CH_3\ CH_3 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

(Amino-valeriansäure) (Valeriansäure) (Leucin) (Capronsäure)

Es ist nun eine selbstverständliche Forderung der Theorie, daß die aus bestimmten Formen von aliphatischen Aminosäuren hervorgehenden Fettsäuren optisch-aktiv sein müssen, wie z. B. die aus dem durch F. Ehrlichs[1]) wichtige Entdeckung bekannt gewordenen Isoleucin ($\beta$-$\beta_1$-Methyl-äthyl-$\alpha$-amino-propionsäure) sich bildende Capronsäure ($\beta$-$\beta_1$-Methyl-äthyl-propionsäure)

$$\begin{array}{c} CH_3\ C_2H_5 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} CH_3\ C_2H_5 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Tatsächlich fanden wir eine starke Drehung in der Capronsäurefraktion, entsprechend der von Ehrlich (l. c.) festgestellten hohen Beteiligung des Isoleucins am Aufbau der meisten Proteine. Wir fanden jedoch auch die Fraktionen der Valeriansäure erheblich drehend, was auf einen Gehalt aktiver Methyl-äthyl-essigsäure zurückzuführen ist[2]).

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 2320, 1904.

[2]) Über den optisch-inaktiven Anteil der Valeriansäure sollen weitere Untersuchungen angestellt werden. Neben der Isopropylessigsäure

$$\begin{array}{c} CH_3 \\ CH_3 \end{array}\!\!>CH\cdot CH_2\ COOH$$

findet sich vielleicht auch die n-Valeriansäure, die sowohl aus dem Arginin (I) bzw. der diesem zugrunde liegenden $\alpha$-$\delta$-Diaminovaleriansäure (II) als auch aus der Pyrrolidinsäure (III) bzw. dem Oxyprolin (E. Fischer), ev. auch aus einer Oxyaminovaleriansäure (Sörensen) hervorgehen könnte:

$$\begin{array}{l} \text{I. } NH\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH \\ \quad\ \ | \\ \quad\ \ CNH \\ \quad\ \ | \\ \quad\ \ NH_2 \end{array} \searrow$$

$$\text{II. } CH_2NH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CHNH_2\cdot COOH \longrightarrow CH_3\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot COOH$$

$$\text{III. } \underbrace{CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH}_{NH} - COOH \longrightarrow$$

Als Zwischenprodukt tritt hier vielleicht die $\delta$-Aminovaleriansäure von E. und H. Salkowski auf. Als Muttersubstanz dieser Aminosäure

Allerdings ist die direkte amidierte Muttersubstanz, die $\beta$-$\beta_1$-Methyl-äthyl-$\alpha$-aminoessigsäure[1])

$$\begin{matrix} CH_3\ C_2H_5 \\ \diagdown\diagup \\ CNH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} CH_3\ C_2H_5 \\ \diagdown\diagup \\ CH \\ | \\ COOH \end{matrix},$$

bisher nicht mit Sicherheit als Eiweißspaltungsprodukt beobachtet, und wir müssen es daher dahingestellt sein lassen, ob die aktive Valeriansäure aus der entsprechend gebauten Aminovaleriansäure gebildet worden ist oder — eine Möglichkeit, auf die vor kurzem[2]) auch F. Ehrlich hingewiesen hat — durch Abbau aus höheren Säuren. Dieser letztere Vorgang einer Kohlenstoffkettenverkürzung steht durchaus nicht ohne Analogie da.

Die Entstehung der Phenylessigsäure, die ebenso wie die folgenden Verbindungen E. und H. Salkowski u. a. bei der Eiweißfäulnis gefunden haben, aus der Phenylaminopropionsäure:

$$\begin{aligned} C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH &\rightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \\ &\rightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH, \end{aligned}$$

die Bildung der Oxyphenylessigsäure aus dem Tyrosin:

$$\begin{aligned} C_6H_4{\overset{OH}{\diagup}}\!\!-CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH &\rightarrow C_6H_4{\overset{OH}{\diagup}}\!\!-CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \\ &\rightarrow C_6H_4{\overset{OH}{\diagup}}\!\!-CH_2 \cdot COOH, \end{aligned}$$

die der Indolessigsäure aus der Indolaminopropionsäure:

$$\begin{aligned} (C_8H_6N)\ CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH &\rightarrow (C_8H_6N)\ CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH \\ &\rightarrow (C_8H_6N)\ CH_2 \cdot COOH, \end{aligned}$$

die fast stets neben den entsprechenden substituierten Propionsäuren auftreten, wäre durchaus mit der Bildung von optisch-

---

gilt heute das Arginin; mit ebensoviel Recht könnte sie vorläufig aus den Prolinkörpern hergeleitet werden. Die Entscheidung dürfte wahrscheinlich durch Fäulnisversuche mit den isolierten Aminoprodukten (ev. mittels Reinkulturen) herbeigeführt werden. — Die Anstellung solcher Versuche mit den aliphatischen Aminosäuren möchten wir uns vorbehalten, soweit sie die verschiedenen hier angeregten Punkte, auch die Frage der Kohlenstoffkettenverkürzung (siehe S. 181 u. 183) durch Fäulnis, betreffen.

[1]) D. Slimmer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **35**, 406, 1902. — F. Ehrlich und Wendel, diese Zeitschr. **1**, 30, 1906. — Gulewitsch und Wasmus, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 1181, 1906.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 2538, 1907.

aktiver Methyl-äthyl-essigsäure neben der Methyl-äthyl-propionsäure aus der $\beta$-$\beta_1$-Methyl-äthyl-$\alpha$-aminopropionsäure in Parallele zu setzen.

$$\frac{CH_3}{C_2H_5}\!\!>\!CH - CHNH_2 \cdot COOH \rightarrow \frac{CH_3}{C_2H_5}\!\!>\!CH \cdot CH_2 \cdot COOH \rightarrow \frac{CH_3}{C_2H_5}\!\!>\!CH \cdot COOH$$

Die Entstehung von Phenol, Kresol, Indol, Skatol, Schwefelwasserstoff usw. zeigt ja zur Genüge, daß die Verkleinerung von Kohlenstoffketten bei der Eiweißfäulnis noch viel weiter gehen kann und ein ungemein häufiger und leicht eintretender Vorgang ist.

Eine bisher nicht beachtete Art des Abbaus von Kohlenstoffketten haben wir bei diesen Versuchen noch feststellen können.

Bei der Untersuchung der flüchtigen Fettsäuren aus gefaultem Casein fanden wir, daß bei weitem die größte Menge (47 g von 117 g, d. h. mehr als ein Drittel der aus 1 kg Casein erhaltenen Fettsäuren) auf die Buttersäure entfällt; es ist nun ganz ausgeschlossen, daß diese aus Aminobuttersäure durch den einfachen Vorgang der Desamidierung entstanden ist, denn — wenn überhaupt — findet sich die Aminobuttersäure in der Natur außerordentlich spärlich[1]), während sie nach einer analogen Folgerung aus den Ergebnissen der Eiweißfäulnis den überwiegenden Teil des Caseinmoleküls ausmachen müßte. Bei den exakten Untersuchungen, die gerade das Casein erfahren hat, ist es vollständig unmöglich, daß solche Mengen Aminobuttersäure übersehen worden wären. Die Muttersubstanz der Buttersäure muß demnach eine andere sein, und es muß hierfür in erster Reihe die Glutaminsäure in Betracht kommen. Denn sie beteiligt sich nach den Angaben von E. Jochem[2]) zu 16%, sowie nach neueren von Emil Fischer[3]) zu 10% am Aufbau des Caseins, und ihr Übergang in Buttersäure ist chemisch leicht verständlich, indem in diesem Falle die sonst meist getrennt verlaufenden Prozesse der Desamidierung und Kohlensäureabspaltung zusammen am gleichen Molekül eintreten[4]):

---

[1]) Die alten Angaben von Schützenberger (Compt. rend. **82**, 263) über die Beteiligung von Aminobuttersäure am Aufbau der Proteine sind von keinem der späteren Beobachter bestätigt worden.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 124, 1900.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 151, 1901.

[4]) Man könnte sich natürlich auch vorstellen, daß intermediär Glutarsäure entsteht, die dann durch die Fäulnisvorgänge Kohlensäure verliert

$$COOH - CH_2 - CH_2 - CH_2 \cdot NH_2 - COOH \rightarrow COOH - CH_2 - CH_2 - CH_3 .$$

Tatsächlich konnte festgestellt werden, daß die bei der Fäulnis des Caseins und anderer Proteinstoffe auftretende Buttersäure die normale ist, wie sie aus Glutaminsäure hervorgehen kann.

Die Trennung der flüchtigen Fettsäuren[1]) geschah durch fraktionierte Destillation der freien Säuren und fraktionierte Kristallisation oder Fällung der Salze. Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung der Mengen an freien Fettsäuren:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. | Fraktion bis | 101° | 13 g |
| 2. | „ | 102—129° | 4 g |
| 3. | „ | 120—141° | 4 g |
| 4. | „ | 142—163° | 47 g |
| 5. | „ | 164—174° | 10 g |
| 6. | „ | 174—204° | 13 g |
| 7. | „ | 205—260° | 5 g |
| 8. | „ | 261—280° | 5 g |

Es ist kaum zweifelhaft, daß die scheinbare Sonderstellung der Glutaminsäure bei der Fäulnis sich auch bei anderen Vertretern der Aminodicarbonsäuren wiederfinden wird, so ist es nicht ausgeschlossen, daß ein Teil der bei der Fäulnis sich bildenden Propionsäure außer aus Alanin aus der Asparaginsäure hervorgeht:

$$COOH \cdot CH_2 \cdot CH \cdot NH_2 \cdot COOH \rightarrow COOH \cdot CH_2 \cdot CH_3 .$$

Ob die hierbei freiwerdende Carboxylgruppe die Muttersubstanz der in reichlichen Mengen gebildeten Ameisensäure ist, oder

---

und sofort zu Buttersäure wird; bemerkenswerterweise ist Glutarsäure nie mehr als in Spuren bei der Fäulnis selbst sehr glutaminsäurereicher Proteinstoffe gefunden worden. — Kleine Mengen von Buttersäure könnten vielleicht, auf ähnlichem Wege (vgl. S. 181) wie die Phenylessigsäure aus dem Phenylalanin, auch aus den Prolinkörpern und dem Arginin (vgl. die Anm. auf S. 180 u. 181) durch Kohlenstoffkettenverkürzung entstehen; doch findet man bei der Fäulnis so viel δ-Aminovaleriansäure und Pentamethylendiamin, daß wohl kein sehr großer Anteil zu n-Valeriansäure oder n-Buttersäure wird.

Übrigens geht bereits aus älteren Arbeiten über die Fäulnis von Eiweißstoffen (vgl. Emmerling, Ber. **29**, 2721, 1896, 1896; **30**, 1863, 1897) die Bildung erheblicher Mengen von Buttersäure hervor, ohne daß dieses jedoch den Autoren aufgefallen oder etwas über ihre Herkunft ausgesagt ist.

[1]) Das Gemisch zeigte im Dezimeterrohre direkt eine Drehung gleich + 1,2°.

ob diese durch komplexe Reaktionen aus Oxyaminosäuren oder Kohlehydratgruppen der Proteinstoffe hervorgeht, ist zurzeit unentschieden[1]).

Ebenso wie die Fettsäuren aus Casein verhielten sich die flüchtigen Säuren aus gefaultem Leim; hier war die Drehung des Gemisches (+1,1° im Dezimeterrohr) unbedeutend geringer.

---

Die Feststellung, daß die bei der Desamidierung der Aminosäuren auftretenden Fettsäuren vielfach eine verzweigte Kohlenstoffkette sowie optische Aktivität besitzen, ist insofern von allgemein biologischem Interesse, als der Eintritt der Desamidierung unzweifelhaft zu den normalen Vorgängen im tierischen Organismus, sowohl beim Zellstoffwechsel wie bei den Prozessen im Darm, gehört. Die hauptsächlich in Betracht kommenden Säuren der 5- und 6-Kohlenstoffreihe, aktive Valeriansäure und Capronsäure, stehen vielleicht durch einen der Saccharinumlagerung entgegengesetzten Vorgang usw. in Beziehung zu den Hexosen und Pentosen. Ihre verzweigte Struktur ist auch für die im Augenblick viel bearbeitete Frage des Eiweißabbaus beim Diabetiker, soweit er über die Fettsäuren führt, sowie für die Frage der Herkunft der $\beta$-Oxybuttersäure und des Acetons von Bedeutung[2]). Übrigens ist hier die optisch aktive Capronsäure zum erstenmal in der Natur aufgefunden. Der ihr entsprechende Alkohol, der d-Hexylalkohol, findet sich im Römisch-Kamillenöl und ist auch künstlich durch Oxydation in optisch-aktive Capronsäure übergeführt worden. Die d-Methyl-äthylessigsäure ist schon einmal als Naturprodukt beobachtet worden, und zwar als Spaltungsprodukt des seltenen Glucosids Convulvin. Die beschriebene Entstehung aus gefaultem Casein oder Leim zeigt, daß beide

[1]) Der Verlauf der erwähnten Reaktion der Kohlenstoffkettenverkürzung unter Abspaltung von Ameisensäure erinnert an die Verhältnisse, die beim elektrolytischen Abbau der Kohlehydratsäuren bestehen (C. Neuberg, Vortrag in der Sitzung der Deutsch. chem. Ges. vom 26. Nov. 1906), sowie an den Abbau des Leucins durch Wasserstoffsuperoxyd zu Isovaleraldehyd (C. Neuberg und F. Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr. **1901,** Nr. 1 u. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **2,** 238, 1902).

[2]) Die reichliche Bildung der Acetonkörper im tierischen Organismus aus zugeführter Buttersäure ist längst bekannt, unerklärt war nur die natürliche Entstehung großer Mengen Buttersäure. Für die Herkunft dieser Säure ist nunmehr der Schlüssel gefunden.

optisch-aktiven Säuren sich auch aus tierischem Material in der Natur bilden.

---

1 kg reines Casein wurde nach der von E. und H. Salkowski[1]) angegebenen Vorschrift in Fäulnis versetzt, und aus dem Reaktionsprodukt in üblicher Weise das Gemisch der flüchtigen Fettsäuren abgeschieden.

Die durch Wasserdestillation gewonnenen freien Fettsäuren wurden mit Äther aufgenommen und in ätherischer Lösung über geglühtem Glaubersalz getrocknet; die schließlich nach Abdampfen des Äthers durch Destillation erhaltene Menge betrug 117 g, wobei Verluste[2]), namentlich an den niederen Gliedern Ameisensäure, Essigsäure und Propionsäure, sicher vorhanden waren, jedoch kam es auf die letzteren in vorliegendem Falle weniger an. Die wasserfreien Fettsäuren wurden zunächst einer fraktionierten Destillation unterworfen und in die ungefähren Fraktionen der Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure getrennt. Es wurde noch eine nächst höhere Fraktion vom Siedepunkt etwa der Caprinsäure, sowie ein zwischen 261°—280° übergehender Anteil aufgefangen, während eine dicke, zum Teil fest werdende Masse im Kolben zurückblieb. Die Mengen der einzelnen Fraktionen sind aus der Tabelle (S. 183) zu ersehen.

Zur Orientierung wurden die Fraktionen auf ihr Drehungsvermögen untersucht. Von der in der Hauptmenge aus Propionsäure bestehenden Fraktion an war ein zunächst geringes Drehungsvermögen zu beobachten, das über die Fraktion der Buttersäure zur Valeriansäure und zur Capronsäure erheblich wuchs, um dann in den höheren Fraktionen wieder zu sinken.

Da nun weder Propionsäure noch Buttersäure ein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzen, muß das Drehungsvermögen dieser Fraktion auf Beimengungen von höheren Gliedern, insbesondere von optisch-aktiver Valeriansäure und Capronsäure, beruhen. Durch erneute Destillation der Buttersäurefraktion

---

[1]) Siehe E. Salkowski, Praktikum 1906, 3. Aufl., 227.

[2]) Die Zahlen der Tabelle geben für die niederen Glieder deshalb nur angenäherte Werte; immerhin ist das starke Vorwiegen der Ameisensäure ersichtlich, und es konnten 6,8 g Calciumformiat in reinem Zustande (über das Zinksalz) erhalten werden:

gelang es, die Reinigung so weit zu treiben, daß ein fast inaktives Produkt erhalten wurde, dessen Menge ca. 40,0 g betrug. Daß tatsächlich Buttersäure vorlag, wurde durch die Analyse der freien Säure sowie ihres Silbersalzes erwiesen. Ein Teil der erhaltenen Buttersäure wurde durch Kochen mit Calciumcarbonat und sehr viel Wasser, in das Calciumsalz verwandelt, und dieses durch Endampfen in reinem Zustande abgeschieden. Eine in der Kälte gesättigte Lösung des noch einmal umkrystallisierten Salzes trübte sich stark beim Erhitzen; im lufttrocknen Zustande hatte die Verbindung 1 Mol. Krystallwasser. Dadurch ist die vorliegende Säure als die normale charakterisiert.

Die nächst höhere Fraktion bestand der Hauptsache nach aus Valeriansäure, enthielt aber zweifelsohne kleine Mengen Capronsäure und Buttersäure. Wieviele von den möglichen Säuren der 5-Kohlenstoffreihe vorlagen, ist vorläufig nicht untersucht, aus dem Drehungsvermögen[1] $[\alpha]_D = +3{,}11^\circ$ ergibt sich für das nochmals destillierte Produkt ein Gehalt von ungefähr 18,0% an rechtsdrehender Methyläthylessigsäure. Das spezifische Drehungsvermögen der letzteren beträgt in reinem Zustande nach Taverne sowie W. Marckwald $+17{,}30^\circ$.

Wie die Valeriansäurefraktion, ist auch die folgende ein Gemisch von verschiedenen Fettsäuren der 6-Kohlenstoffreihe; durch erneute Destillation wurden daraus 9,5 g einer Säure gewonnen, deren Zusammensetzung auf Capronsäure stimmte. Diese durch Fäulnis entstandene Capronsäure enthält zum mindesten zwei isomere Säuren der 6-Kohlenstoffreihe; wahrscheinlich die Isobutylessigsäure, die dem gewöhnlichen Leucin, und die rechtsdrehende Form der $\beta$-$\beta_1$-Methyl-äthyl-propionsäure, die dem Isoleucin entspricht. Eine Trennung der beiden Isomeren durch die übliche Methode der Destillation oder Krystallisation einfacher Salze führte nicht zum Ziele, sie läßt sich aber durch eine Fraktionierung mit geeigneten Alkaloidsalzen erreichen[2]). Über den Gehalt des Produktes an optisch-aktiver Capronsäure kann man sich leicht durch Bestimmung des Drehungsvermögens orientieren. Für die optisch-aktive Capronsäure, die v. Romburgh[3]) durch Oxydation des d-Hexylalkohols

---

[1]) $\alpha = +2{,}9^\circ$; $c = 100$; $l = 1$; $d_{18} = 0{,}931$.

[2]) Hierüber soll später berichtet werden.

[3]) Rev. des trav. chim. des Pays-Bas. 5, 221.

aus Römisch-Kamillenöl gewonnen hat und die gleichfalls die Konstitution

$$\frac{CH_3}{C_2H_5}{>}CH \cdot CH_2 \cdot COOH$$

besitzt, beträgt $[\alpha]_D = +8,92°$. Das spezifische Drehungsvermögen der Fäulniscapronsäure[1]) betrug $+4,02°$, so daß ca. 46% der Capronsäure, wie sie bei der Eiweißfäulnis entsteht, aktiver Form war. Dies Verhältnis kann sich natürlich u. a. mit der Natur des Ausgangsmaterials, d. h. mit dessen Gehalt an den verschiedenen Aminosäuren, ändern, und in der Tat wurde bei der Capronsäure aus gefaultem Leim (siehe Seite 190) ein Gehalt von nur ca. 33,0% an aktiver Form gefunden[2]).

Die bei 205°—260° siedende Fraktion — ihre Menge betrug 5 g — hat nach nochmaliger Destillation, aus der Analyse der freien Säure und ihres Silbersalzes zu schließen, angenähert die Zusammensetzung der Caprinsäure; jedenfalls ist ihr Kohlenstoffgehalt höher als der einer Hexansäure. Selbstverständlich besteht keine Garantie für Reinheit und Einheitlichkeit dieser Säure der 10-Kohlenstoffreihe; immerhin bietet ihr Vorkommen bei der Eiweißfäulnis ein bemerkenswertes Interesse. Eine synthetische Bildungsweise dieser Säure während des Fäulnisvorganges läßt sich nicht ausschließen, ist aber in Anbetracht der Entstehung der übrigen Säuren bei diesem Vorgange nicht besonders wahrscheinlich; es ist deshalb nicht ohne weiteres die Möglichkeit von der Hand zu weisen, daß diese Caprinsäure — wie die Capronsäure aus Leucin oder die Buttersäure aus Glutaminsäure — aus präformierten Eiweißbausteinen mit 11 oder 12 Kohlenstoffatomen im Molekül hervorgeht. Allerdings sind entsprechende einfache Monoaminosäuren bisher nicht gefunden worden, aber es wäre denkbar, daß sie im Proteinmolekül in so geringer Menge vorkommen, daß sie bisher nicht isoliert werden konnten, oder sich infolge Mischkristallbildung mit anderen Aminosäuren der Beobachtung entzogen haben, wie dies lange Zeit bei der Aminovaleriansäure und Pyrrolidincarbonsäure der Fall ge-

---

[1]) $\alpha = +2,95°$; $c = 100$; $l = 1$; $d_{21} = 0,920$.

[2]) Da die Synthese der optisch-aktiven Capronsäuren bislang nicht ausgeführt war, habe ich mit Herrn cand. phil. B. Rewald die künstliche Darstellung unternommen. Die inaktive (racemische) Methyl-äthyl-propionsäure läßt sich über die Alkaloidsalze spalten. Aus dem Brucinsalz erhielten wir die l-, aus der Mutterlauge die d-Säure.

wesen ist. Vielleicht kommen auch die Diaminotrioxydodecansäure $C_{12}H_{26}N_2O_5$ oder die Caseansäure usw. als Muttersubstanz der „Caprinsäure“ in Betracht. Die Menge der gesamten, nicht weiter gereinigten Fraktion, 5 g, machte ja nur 0,5 % des Ausgangsmaterials oder 4,2% der Gesamtquantität der isolierten Fettsäuren aus. Die isomeren Caprinsäuren sind bisher nur höchst unvollständig bekannt. In der Fäulnissäure liegt keinesfalls die Substanz mit normaler Kohlenstoffkette vor, sondern eine oder das Gemisch mehrerer Verbindungen mit verzweigter Kohlenstoffkette, wie man aus der optischen Aktivität folgern muß. Ein Gemisch der nochmals destillierten Säure (3 ccm) mit 5 ccm Ligroin zeigte eine beträchtliche Rechtsdrehung, entsprechend einem Gehalt von 0,9% Traubenzucker.

Die nächst höhere Fraktion mit dem Siedepunkt 261°—280° enthielt keine einfachen Fettsäuren mehr. Zwar ist aus ihr im reinen Zustande keine Substanz isoliert worden, aber die Eigenschaften dieses Anteils ließen auf einen Gehalt an fettaromatischen Säuren [Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure (?) usw.] schließen. Es müssen jedoch auch noch andere Substanzen hier zugegen sein, da auch diese Fraktion eine wenn auch geringere Rechtsdrehung aufwies, und zwar drehten 5 ccm des gelbgefärbten Destillats, verdünnt mit 15 ccm Äther, die Ebene des polarisierten Lichtes so stark nach rechts, wie eine 0,2prozentige Traubenzuckerlösung.

Ein ähnliches Ergebnis hatte die Untersuchung der Säuren aus gefaulter Gelatine. Die Säuren waren vor mehr als 20 Jahren von E. Salkowski dargestellt worden. Da die Menge des Ausgangsmaterials und der isolierten Fettsäuren nicht genau bekannt war, so beschränken wir uns auf die Wiedergabe der Analyse sowie des Drehungsvermögens der einzelnen Fraktionen. Wie ersichtlich, ist die Verteilung der optisch-aktiven Fettsäuren eine ähnliche; nur ist der Gehalt der Valeriansäurefraktion an aktiver Form, 17,4%, sowie der an rechtsdrehender Form bei der Capronsäure, etwa 33%, für dieses Material ein etwas anderer.

### Analysen der Eiweißfäulnissäuren.

*A. Fettsäuren aus gefaultem Casein.*

1. Buttersäurefraktion.

a) Freie Säure: 0,1516 g Substanz ergaben 0,3033 g $CO_2$ und 0,1295 g $H_2O$.

Gefunden: C = 54,66%; H = 9,51%.
Berechnet für $C_4H_8O_2$: C = 54,54%; H = 9,09%.

b) Silbersalz: 0,0940 g Substanz ergaben 0,0503 g Ag.
Gefunden: Ag = 53,51%.
Berechnet für $C_4H_7O_2$ Ag: Ag = 53,30%.

2. Valeriansäurefraktion.

a) Freie Säure: 0,1440 g ergaben 0,3115 g $CO_2$
und 0,1297 g $H_2O$.
Gefunden: C = 58,99%; H = 10,01%.
Berechnet für $C_5H_{10}O_2$: C = 58,82%; H = 9,80%.

b) Silbersalz: 0,1062 g Substanz ergaben 0,0551 g Ag.
Gefunden: Ag = 51,86%.
Berechnet für $C_5H_9O_2$ Ag: Ag = 51,60%.

3. Capronsäurefraktion.

a) Freie Säure: 0,1225 g Substanz ergaben 0,2784 g $CO_2$
und 0,1123 g $H_2O$.
Gefunden: C = 62,11%; H = 10,19%.
Berechnet für $C_6H_{12}O_2$: C = 62,07%; H = 10,32%.

b) Silbersalz: 0,1078 g Substanz ergaben 0,0521 g Ag.
Gefunden: Ag = 48,26%.
Berechnet für $C_6H_{11}O_2$ Ag: Ag = 48,43%.

4. Caprinsäurefraktion.

a) Freie Säure: 0,1325 g Substanz ergaben 0,3411 g $CO_2$
und 0,1443 g $H_2O$.
Gefunden: C = 70,22%; H = 12,11%.
Berechnet für $C_{10}H_{20}O_2$: C = 69,76%; H = 11,62%.

b) Silbersalz: 0,1399 g Substanz ergaben 0,0549 g Ag.
Gefunden: Ag = 39,00%.
Berechnet für $C_{10}H_{19}O_2$ Ag: Ag = 38,66%.

5. Drehungsvermögen.
Siehe Seite 186.

### *B. Fettsäuren aus gefaulter Gelatine.*

1. Silbersalz aus der Buttersäurefraktion.

0,1446 g Substanz ergaben 0,0799 g Ag.
Gefunden: Ag = 55,33%.
Berechnet für $C_4H_7O_2$ Ag: Ag = 55,30%.

2. Silbersalz aus der Valeriansäurefraktion.

0,1045 g Substanz ergaben 0,0542 g Ag.

Gefunden: Ag = 51,83%.

Berechnet für $C_5H_9O_2$ Ag: Ag = 51,60%.

3. Silbersalz aus der Capronsäurefraktion.

0,1280 g Substanz ergaben 0,0616 g Ag.

Gefunden: Ag = 48,10%.

Berechnet für $C_6H_{11}O_2$ Ag: Ag = 48,43%.

4. Drehungsvermögen.

a) Valeriansäurefraktion:

$$[\alpha]_D = +3{,}01^\circ$$

($\alpha = +2{,}8^\circ$; c = 100; l = 1; $d_{20} = 0{,}929$).

b) Capronsäurefraktion:

$$[\alpha]_D = +2{,}92^\circ$$

($\alpha = +2{,}7^\circ$; c = 100; l = 1; $d_{19} = 0{,}924$).

# Verwandlung von optisch-inaktivem Triolein in ein optisch-aktives Glycerid und eine optisch-aktive Säure.

Von

**C. Neuberg und E. Rosenberg.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 12. September 1907.)*

In einer früheren Mitteilung[1]) haben wir auf das biologische Interesse hingewiesen, das in verschiedener Hinsicht die optisch-aktiven Fettsäuren beanspruchen. Das Problem des Auftretens dieser Säuren in der Natur ist ein zweifaches, indem es sich einmal um die Entstehung dieser Substanzen durch Umbildung aus präformiertem optisch-aktivem Material handelt[2]), dann um eine Neubildung aus inaktiver Materie.

Den Mechanismus der letztgenannten Entstehungsweise haben wir schon früher beleuchtet und gezeigt, wie man, von der gewöhnlichen Ölsäure ausgehend, zu optisch-aktiven Abkömmlingen gelangt. Das Prinzip ist folgendes:

Die natürlichen Fette (Glyceride) sind, abgesehen von den Lipoiden des Lecithintypus[3])

$$\begin{array}{l} CH_2 \cdot \text{O-Fettsäureradikal} \\ | \\ CH \cdot \text{O-Fettsäureradikal} \\ | \\ CH_2 \cdot \text{O-}PO_3H_2\text{-Cholin} \end{array}$$

und den vereinzelten Fetten mit optisch-aktivem Säure- oder Alkoholradikal[4]), optisch-inaktiv und strukturell ohne asym-

---

[1]) Diese Zeitschr. 1, 374, 1907.

[2]) Siehe die voraufgehende Mitteilung.

[3]) Zu ihm gehören auch die gemischten Glyceride, über deren Drehungsvermögen noch nichts sicheres bekannt ist.

[4]) Eine Zusammenstellung der wichtigsten siehe in unsere früheren Mitteil. (cf. sub 1).

metrisches Kohlenstoffatem. Wie ein solches resp. mehrere entstehen können, zeigt die Betrachtung am **Triolein**

$$\begin{array}{l} CH_2 \cdot \text{O-Ölsäure} \\ | \\ CH \cdot \text{O-Ölsäure} \\ | \\ CH_2 \cdot \text{O-Ölsäure,} \end{array}$$

das bekanntlich einen erheblichen Teil in den Fetten der Flora und Fauna ausmacht und bei vielen flüssigen in nahezu reiner Form vorliegt.

Das Trocknen ölsäurehaltiger Fette, ebenso die Veränderungen der freien Ölsäure ($\alpha$) an der Luft[1]), ferner die interessanten Umwandlungen der ungesättigten Fettsäuren bei der Autolyse[2]) beruhen auf Sauerstoffaufnahme oder Wasseranlagerung an der Stelle der doppelten Bindung, wobei Dioxystearinsäure ($\beta$), Monooxystearinsäure bzw. Stearolacton ($\gamma$) oder andere Polyoxysäuren [Oxyketostearinsäure ($\delta$) usw.] entstehen, kurz, lauter Verbindungen mit einem oder zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen, wie die folgenden Formeln zeigen:

$$\begin{array}{ll} \alpha) & CH_3(CH_2)_7\,CH = CH(CH_2)_7\,COOH \\ \beta) & CH_3(CH_2)_7\,\overset{*}{C}H \cdot OH \cdot - \overset{*}{C}H \cdot OH\,(CH_2)_7\,COOH \\ \gamma) & CH_3(CH_2)_7\,\overset{*}{C}HOH - CH_2(CH_2)_7\,COOH \\ \delta) & CH_3(CH_2)_7\,CO - \overset{*}{C}HOH(CH_2)_7\,COOH \end{array}$$

(oder Isomere).

Diese Systeme sind an sich zwar asymmetrisch, jedoch noch inaktiv resp. racemisch, aber sie können unter Voraussetzungen, die in der Natur durchaus vorhanden sind, optisch-aktiv werden. Diese Bedingungen, die im Experiment verwirklicht worden sind und drehende Fettsäuren ergaben, sind folgende:

Von einem Triolein, das durch Wasseraufnahme oder langsame Oxydation in das System

---

[1]) Vgl. E. Salkowski, Festschr. für Rud. Virchow, **1891**, 19. — M. v. Senkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**, 434, 1898. — Scala, zit. nach Ulzer-Klimont, Chem. d. Fette, **1906**, 93. — D. Holde und J. Marcusson, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 2657, 1903.

[2]) Sigval Schmidt-Nielsen, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 274, 1903.

$$\begin{array}{l} CH_2O - CO(CH_2)_7\,\overset{*}{C}HX \cdot \overset{*}{C}HX(CH_2)_7\,CH_3 \\ | \\ CHO \;\; - CO(CH_2)_7\,\overset{*}{C}HX \cdot \overset{*}{C}HX(CH_2)_7\,CH_3 \\ | \\ CH_2O - CO(CH_2)_7\,\overset{*}{C}HX \cdot \overset{*}{C}HX(CH_2)_7\,CH_3 \end{array}$$

oder

$$\begin{array}{l} CH_2O - CO(CH_2)_7\,CH_2 \cdot \overset{*}{C}HY(CH_2)_7\,CH_3 \\ | \\ CHO \;\; - CO(CH_2)_7\,CH_2 \cdot \overset{*}{C}HY(CH_2)_7\,CH_3 \\ | \\ CH_2O - CO(CH_2)_7\,CH_2 \cdot \overset{*}{C}HY(CH_2)_7\,CH_3 \end{array}$$

übergegangen ist, läßt sich voraussehen, daß es durch fettspaltende Fermente bei deren asymmetrischer Wirkungsweise zur Hälfte verseift werden wird, indem Glycerin und freie aktive Säure entstehen, während deren Antipode mit der anderen Hälfte des Glycerins zum aktiven Glycerid vereinigt bleibt.

Zur praktischen Ausführung des Versuches[1]) geht man zweckmäßig von dem vollständig (durch 6 Atome Br) bromierten, synthetischen Triolein (Dibromstearinsäure-triglycerid) aus und läßt darauf pflanzliche Lipase wirken. Dabei entsteht rechtsdrehende freie Dibromstearinsäure und ein gleichfalls rechtsdrehendes Dibromstearinsäureglycerid.

Das verwendete Material ist formal vollkommen den Produkten der langsamen Oleinoxydation analog. Es ist selbstverständlich, daß auch bei gemischten ungesättigten Glyceriden oder bei entsprechender Umwandlung nur eines Ölsäurerestes ganz analoge durch Lipase zerlegbare Systeme mit asymmetrischen Stearinsäurederivaten entstehen können.

Fettspaltende Fermente sind in der Natur außerordentlich verbreitet; sie finden sich im tierischen und pflanzlichen Organismus, in den Sekreten wie intracellulär. Die Bakterien und ihre Ausscheidungen wirken gleichfalls stark fettspaltend, und jüngst ist festgestellt[2]), daß auch zahlreiche Toxine, wie die

---

[1]) Benutzt wurde das ganz analoge Hexabromtriolein, das leichter und reiner als die entsprechenden Sauerstoffderivate erhältlich ist. Um jede Verunreinigung auszuschließen, wurde synthetisches Triolein angewendet:

$$\begin{array}{l} CH_2O - CO \cdot (CH_2)_7 \cdot CHBr \cdot CHBr \cdot (CH_2)_7 \cdot CH_3, \\ | \\ CH \cdot O - CO \cdot (CH_2)_7 \cdot CHBr \cdot CHBr \cdot (CH_2)_7 \cdot CH_3, \\ | \\ CH_2O - CO \cdot (CH_2)_7 \cdot CHBr \cdot CHBr \cdot (CH_2)_7 \cdot CH_3. \end{array}$$

[2]) C. Neuberg und E. Rosenberg, Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 2, sowie C. Neuberg und K. Reicher, diese Zeitschr. **4**, 281, **1907**; Münch. med. Wochenschr. **1907**, Nr. 35.

Schlangengifte, ferner das Crotin, Ricin sowie Bienengift usw. lipolytisch sind. Die halbseitige Verseifung durch Lipasen ist bereits mehrfach beobachtet, so von H. Dakin[1]), von Paul Mayer[2]) (vgl. auch O. Warburg)[3]), sie ist ein ziemlich häufiger Vorgang[4]).

Es ist also gezeigt worden, daß aus inaktiven Fetten durch Vorgänge wie langsame Oxydation usw. und asymmetrische Spaltung mittels belebter oder lebloser Fermente optisch-aktive Fettsäuren entstehen können.

Es ist übrigens denkbar, daß die vereinzelt beobachteten höheren Fettsäuren mit Drehungsvermögen in der Pflanze bzw. im Tierkörper in ähnlicher Weise gebildet werden. Man kann sich vorstellen, daß z. B. die Glyceride der Ricinusölsäure (II) aus Glyceriden der Linolsäurereihe (I) auf analoge Art z. B. über ein Glycerid einer inaktiven Monohydroxyölsäure und durch dessen asymmetrische Verseifung hervorgehen:

$$\text{I.}\quad CH_3-(CH_2)_4-CH = CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$$

$$\text{II.}\quad CH_3-(CH_2)_4-CH_2-CH\cdot OH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH.$$

Auch die Entstehung der eigentümlich gebauten Säuren der Chaulumgrasäurereihe wird durch ähnliche Überlegungen dem Verständnis näher gerückt. Denn bedenkt man weiter, wie leicht die mehrfachen Doppelbindungen ihren Platz im Molekül wechseln und welche Reaktionsfähigkeit sie hervorrufen, so könnte man unschwer, ausgehend von den schönen Untersuchungen von Marmaduke Barrowcliff und Frederic Bilding Power[5]), eine ähnliche Bildungsweise für die Chaulumgrasäure annehmen.

---

1) H. Dakin, Journ. of Physiol. 32, 199, 1905.

2) P. Mayer, Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 35; diese Zeitschr. 1, 39, 1906.

3) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 205, 1906.

4) In der asymmetrischen Verseifung durch Lipase hat man vielleicht auch ein Mittel, um die öfter recht unsichere Existenz der gemischten Glyceride zu erweisen. Soweit sie asymmetrische Struktur besitzen, aber racemisch sind, könnten sie durch Lipase halbseitig verseift werden und müßten ein durch das Enzym nicht angreifbares drehendes Glycerid ergeben. Auf die Möglichkeit der Existenz solcher aktiver Glyceride hat übrigens zuerst Felix Hahn, Diss. Leipzig 1904, S. 31 u. 32, hingewiesen.

5) Journ. Chem. Soc. 91, 557, 1907.

Diese (V) könnte nämlich hervorgehen durch Wasserabspaltung und gleichzeitigen Ringschluß aus einer Oxyölsäure (IV) [mit anderer Stellung der Doppelbindung als bei II], die selbst der Hydration und asymmetrischen Verseifung des Glycerides einer Linolsäure (III) ihre Entstehung verdanken würde:

III. $CH_3-CH_2-CH=CH-CH=CH-(CH_2)_{11}-COOH$.

IV. $CH_3-CH_2-CH=CH-CH\cdot OH-CH_2-(CH_2)_{11}-COOH$.

V. $CH_2-CH_2-CH=CH-CH-CH_2-(CH_2)_{11}-COOH$.

---

20 g reinstes synthetisches Triolein (Kahlbaum) wurde in 200 ccm wasserfreiem Chloroform gelöst und unter Kühlung in einer Kältemischung mit einer 6 Atome Halogen entsprechenden Menge Brom (3,6 ccm) versetzt. Diese waren gleichfalls in 100 ccm Chloroform gelöst und wurden durch einen Tropftrichter langsam hinzugefügt.

Nach 48-stündigem Stehen wurde die Chloroformlösung des vollständig bromierten Ölsäureglycerides in einem großen Scheidetrichter nacheinander mit verdünnter Sodalösung und dann mit Wasser gewaschen, schließlich über Chlorcalcium getrocknet. Nach dem Abdunsten des Chloroforms verblieb ein schwach gelb gefärbtes Öl, das im wesentlichen aus dem Additionsprodukt von 6 Atomen Brom an Triolein, also aus Dibromstearinsäuretriglycerid, bestand. Ohne die Reinigung dieses Produktes weiter zu treiben, diente es zu folgenden Versuchen, die sämtlich eine asymmetrische Verseifung jenes Fettes durch Lipase zum Ziel hatten.

Die fermentative Fettspaltung wurde unter den von Connstein, Hoyer und Wartenberg[1]) als am günstigsten erkannten Bedingungen vorgenommen.

Es wurden 4 ccm des erwähnten bromhaltigen Öles mit 1,5 g Ferment[2]) und 2 ccm Mangansulfatlösung in verschlossenem

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 1436, 1904.

[2]) Zu diesen Versuchen diente das fettspaltende Ferment des Ricinussamens, das wir in ausgezeichneter Qualität von den Vereinigten Chemischen Werken Charlottenburg erhielten. Wir erlauben uns, auch an dieser Stelle der Fabrik für ihre Liberalität ergebensten Dank zu sagen.

Erlenmeyerkolben etwa eine Woche[1]) im Brutschrank aufbewahrt und während dieser Zeit öfters geschüttelt.

Das Reaktionsprodukt, das stark sauer war, wurde mit ungefähr 50 ccm Aceton versetzt, von den ungelösten Flocken des angewandten Enzyms abfiltriert und nun unter Zusatz von Phenolphthalein mit alkoholischer Natronlauge neutralisiert. Das sich hierbei bez. auf Ätherzusatz ausscheidende Salz wurde abfiltriert und mit Aceton ausgewaschen, die Mutterlauge aber verdunstet. Das hinterbliebene Öl wurde sodann in Äther gelöst und im Scheidetrichter mehrfach mit Wasser und etwas Sodalösung ausgeschüttelt, da es stets wieder eine geringe Acidität annahm. Der über Chlorcalcium getrocknete Ätherauszug hinterließ endlich beim Verdunsten ein schwach gelb gefärbtes Öl, das sich in ätherischer Lösung als rechtsdrehend erwies.

Desgleichen zeigte sich die wässerige Lösung des oben erwähnten Salzes Rechtsdrehung.

Dieser Versuch lehrt also, daß man mit Hilfe von Lipase das inaktive Dibromstearinsäuretriglycerid asymmetrisch verseifen kann, derart, daß rechtsdrehende Dibromstearinsäure (Oleinsäuredibromid) und ein gleichfalls dextrogyres Glycerid entstehen.

Das Material zur Bestimmung der Drehung und der Analysen wurde durch mehrere analog ausgeführte Versuche gewonnen. Es wurde bis zu 30 g synthetisches Triolein in Arbeit genommen und die Dauer der Fermenteinwirkung bis auf zwei Wochen bemessen. Das optisch-aktive Dibromstearinsäureglycerid ist der erste bekannt gewordene Vertreter drehender eigentlicher Neutralfette. Durch diese Versuche ist also bewiesen, daß aus optischinaktiven, an sich nicht einmal racemischen Fetten, durch einen Prozeß, welcher der natürlichen Umwandlung der ungesättigten Glyceride durch Oxydation, Trocknen der Öle usw. analog ist, und durch nachherige fermentative Spaltung — einen im Tier- und Pflanzenreich weit verbreiteten Vorgang — die Bildung optischaktiver Fettsäuren stattfinden kann.

[1]) Die fermentative Spaltung des substituierten Trioleins vollzieht sich sehr viel langsamer als die der gewöhnlichen Fette, die schon nach 24—48 Stunden vollständig ist; ähnliche Beobachtungen über eine Erschwerung der Fermentwirkung hat man auch sonst bei künstlich veränderten Naturprodukten gemacht.

Analyse des rechtsdrehenden Oleinhexabromids (Dibromstearinsäureglycerids).

0,1712 g Substanz ergaben 0,3194 g $CO_2$ und 0,1093 g $H_2O$,
0,1061 g Substanz ergaben 0,0858 g AgBr (= 0,0365 g Br).
Gefunden: C = 50,97%; H = 7,10%; Br = 34,41%.
Berechnet für $C_3H_5(C_{18}H_{33}O_2Br_2)_3 = C_5H_{104}O_6Br_6 = 1364$:

$$C = 50{,}14\%$$
$$H = 7{,}62\%$$
$$Br = 35{,}10\%.$$

Der etwas zu niedrig gefundene Bromwert dürfte auf die Neigung der Verbindung zurückzuführen sein, leicht Bromwasserstoff abzuspalten; tatsächlich reagiert die mit Sodalösung gewaschene Verbindung beim Aufbewahren nach einiger Zeit wieder sauer, namentlich bei Zutritt von Luftfeuchtigkeit. Demgemäß fallen die Zahlen für Kohlenstoff etwas zu hoch und für das Drehungsvermögen etwas schwankend aus, und das Glycerid ist zweifelsohne nicht ganz rein.

Die Verbindung krystallisiert auch bei Eiskühlung nicht, in Kältegemisch aus fester Kohlensäure und Äther erstarrt sie zu einem glasigen Firnis.

Bestimmung der Drehung
(am reinsten Präparat):

0,5048 g Substanz wurden in 14,0388 g Chloroform gelöst.
$\alpha = +30'$; $l = 1$; $d = 1{,}540$; $c = 3{,}6$; $[\alpha]_{D_{1''}} + 9{,}09°$.

Rechtsdrehende Dibromstearinsäure (Ölsäuredibromid).

Die aus dem Natronsalz in Freiheit gesetzte Säure ist ein Öl. Zur Analyse diente das Silbersalz, das aus dem rohen Natronsalz in folgender Weise bereitet wurde: Die wässerige alkoholische Lösung wurde mit konzentrierter $AgNO_3$-Lösung versetzt, die ersten Anteile des entstandenen Niederschlages wurden verworfen, und dann wurde erst völlig ausgefällt. Das entstehende Silbersalz wurde mit Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen und im Vakuum getrocknet.

0,0942 g Substanz (aus salpetersaurer, verdünnt-alkoholischer Lösung mit NaBr gefällt) ergaben: 0,0331 g AgBr.

0,1370 g Substanz ergaben (nach Carius) 0,0916 g AgBr.
Berechnet für $C_{18}H_{33}Br_2O_2Ag$: Ag = 19,65%; Br = 29,10%
gefunden: Ag = 20,03%; Br = 28,52%.

Die Bestimmung der Drehungsrichtung

wurde am Natriumsalz ausgeführt. Mit den Produkten aus verschiedenen Darstellungen wurden keine übereinstimmenden Daten erhalten; eine 10prozentige Lösung in 80prozentigem Alkohol drehte nach rechts, und zwar gleich einer 0,3—0,55prozentigen Traubenzuckerlösung. Ob diese Differenzen auf zum Teil symmetrischen Verlauf der Fermentspaltung oder nachträgliche Racemisierung bei der Darstellung des Natronsalzes zurückzuführen sind, ist nicht leicht festzustellen. Außerdem wird, wie vorher angegeben ist, das Hexabromtriolein in Berührung mit Wasser unter Abgabe von Bromwasserstoffsäure leicht sauer, so daß auch eine rein chemische Verseifung, die natürlich inaktive Säure ergibt, mit im Spiele sein kann.

# Die Entstehung des Erdöls.[1])

## (Bildung von optisch-aktiver Naphtha aus drehenden Fettsäuren.)

Von

Carl Neuberg.

*(Eingegangen am 12. September 1907.)*

Steinkohle und Petroleum wetteifern miteinander in der Bedeutung als ehrwürdige Zeugen lange vergangener Perioden einstigen Lebens auf Erden. An der organischen Herkunft der Steinkohle hat der bloße Augenschein und die mikroskopische Betrachtung nie Zweifel gelassen, dagegen ist bei dem strukturlosen Erdöl die Erkenntnis der Abkunft aus belebter Materie erst ein Ergebnis der jüngsten Zeit.

Das gewaltige Interesse, das Forschung und Industrie an dem Petroleumproblem nehmen, ist schon frühzeitig die Veranlassung gewesen, sich mit der Frage nach dem Ursprunge des Erdöls zu beschäftigen. Bereits in einer Zeit, die weit vor der Epoche der industriellen Petroleumverwertung liegt, haben sich Geologen und Chemiker mit dieser Aufgabe beschäftigt, und es ist bemerkenswert, daß eine Reihe dieser frühen Autoren, wie Lemery im Jahre 1675 sowie Spielmann 1774, schon Anschauungen entwickelt haben, die unserer heutigen Auffassung recht nahe standen.

Eine eingehende Bearbeitung der Petroleumfrage war natürlich erst viel später auf Grund der modernen chemischen Forschung möglich.

Zwei prinzipiell verschiedene Anschauungen sind es, die über die Entstehung des Erdöls von verschiedenen Autoren verfochten worden sind: die Petroleumbildung aus anorganischer und die aus belebter Materie. Die erstere geht auf Vermutungen Alexander von Humboldts (1804) zurück, der eine vulkanische Herkunft des Erdöls im Hinblick auf das Vorkommen

---

[1]) Vorgetragen auf der Versammlung Deutsch. Naturf. u. Ärzte Dresden 1907. Vgl. Chem.-Ztg. **1907**, Nr. 77.

von Kohlenwasserstoffen in den Eruptionsgasen mancher Vulkane annahm. Sechzig Jahre später stellte Berthelot eine Theorie anorganischer Erdölbildung auf; er nahm an, daß durch Wechselwirkung der Kohlensäure und Alkalimetalle intermediär Carbide und durch deren Zersetzung Acetylen entständen. Er folgerte weiter, daß analog der von ihm entdeckten Polymerisation des Acetylens auch in der Natur Kondensation zu hohen Kohlenwasserstoffen stattgefunden habe.

Eine experimentelle Stütze erfuhr jedoch die anorganische Theorie der Erdölbildung erst durch Mendelejew, der bei der Zersetzung von Eisen- und anderen Metallcarbiden durch Wasserdampf gasförmige sowie flüssige Kohlenwasserstoffe nachwies. Wesentlich unvollkommener ist eine von Roche aufgestellte Hypothese, nach der durch Wechselwirkung von kohlensaurem Kalk oder ähnlichen Carbonaten mit Schwefelwasserstoff sowie Schwefelsäure bei vulkanischen Prozessen Kohlenwasserstoffbildung erfolgt. Im Jahre 1897 griff Moissan auf die Mendelejewsche Carbidtheorie, die auch unter dem Namen der Emanationshypothese bekannt ist, zurück und es gelang ihm, die bei Behandlung von Metallcarbiden mit Wasser entstehenden Kohlenwasserstoffe durch Kondensation in eine dem Petroleum gleichende Flüssigkeit zu verwandeln.

Neue Nahrung erhielt die anorganische Theorie der Erdölbildung endlich durch die überraschenden Ergebnisse von Sabatier und Senderens bei der Hydrierung und Kondensation zahlreicher aromatischr Verbindungen mittels Wasserstoffs und katalytisch wirkender Metalle (Nickel usw.) bei erhöhter Temperatur.

Diesen Anschauungen gegenüber stehen die Theorien über die Naphthabildung aus organisierter Materie. Schon die erwähnten alten Autoren, wie Lemery, Spielmann u. a., nahmen eine derartige Entstehung aus Bitumen, Bernstein, Harzen usw. an; aber erst Engler und Höfer begründeten experimentell die Theorie der Erdölbildung aus Fettüberresten einer einstmaligen marinen Fauna.

Nach Engler und Höfer ist das Petroleum aus dem Fett von Fischen, Muscheltieren und anderen Meerbewohnern hervorgegangen und zwar derart, daß durch Verwesung die Kohlenhydrate sowie eiweißartige Leibessubstanzen verschwanden, aber

aus dem resistenten Fett, besonders den sehr widerstandsfähigen Fettsäuren Palmitin-, Stearin- und Oleinsäure das Erdöl sich gebildet hat.

Durch Abspaltung von Kohlensäure bzw. von Wasser, sowie durch Zertrümmerung der Kohlenstoffkette unter hohem Druck und vielleicht auch gesteigerte Temperatur sollen zunächst leichtflüssige, relativ niedrig siedende Kohlenwasserstoffe entstanden sein, die durch Selbstpolymerisation im Laufe geologischer Epochen das heutige Erdöl geliefert haben.

In der Tat konnte Engler aus Fischtran sowie isolierten Fettsäuren durch Erhitzen in geschlossenen Gefäßen (Druckdestillation) ein Kohlenwasserstoffgemenge darstellen, das mit dem Petroleum weitgehende Ähnlichkeit zeigte und von dem bestimmte Fraktionen im Laufe der Zeit auch das Phänomen der Selbstpolymerisation erkennen ließen.

Eine andere Hypothese ist von Kraemer und Spilker aufgestellt. Nach dieser sind im wesentlichen Organismen der Pflanzenwelt als Muttersubstanzen des Petroleums zu betrachten und zwar hauptsächlich die auf dem Grund unserer Torfmoore massenhaft vorkommenden Algen, Diatomeen (Seeschlick) usw. Am Aufbau aller hier in Betracht kommenden Organismen sind Wachsarten beteiligt. Diese letzteren geben bei der „Druckdestillation" ein Petroleum.

Die Geologen haben vielfach im Prinzip die Engler-Höfersche Theorie angenommen, insoweit wenigstens, als man im „Fett" von einstmaligen Lebewesen — sei es von Tier, sei es von Pflanze — das Urmaterial für die Hauptmenge des heutigen Erdöls erblickte. Daneben konnte und sollte auch niemals eine anorganische Bildungsweise in beschränktem Umfange und unter dafür günstigen lokalen Bedingungen ausgeschlossen werden.

In eine ganz neue Phase ist nun jüngst das Problem der Erdölbildung getreten, als P. Walden[1]) Biots in Vergessenheit geratene Beobachtung der optischen Aktivität von Petroleum wieder ans Licht zog und nachdrücklich auf die Bedeutung dieses Befundes für die Naphthafrage hinwies. Biots Angaben über das Drehungsvermögen des Erdöls fanden eine Bestätigung durch Soltsien, Tschugajew und Rakusin. Allerdings hat Biot

[1]) P. Walden, Naturw. Rundschau **15**, Nr. 12—16, 1900.

eine sehr starke Linksdrehung beobachtet, während die späteren Autoren eine dem absoluten Betrage nach sehr viel schwächere Rechtsdrehung angeben; wahrscheinlich handelt es sich hier um Naphthasorten verschiedener Herkunft.

Die natürlich vorkommenden optisch-aktiven Verbindungen haben sich bisher ausnahmslos als Produkte der Lebewesen der Fauna oder Flora erwiesen, und aus diesem Grunde darf man mit Recht im Drehungsvermögen des Petroleums die Hauptstütze für die Theorie einer Erdölbildung aus organisierter Materie erblicken.

Nach dieser Theorie sind, wie erwähnt, animalische oder vegetabilische Fette, resp. die aus ihnen entstehenden Fettsäuren die Muttersubstanz der Naphtha, zum mindesten bestimmter Erdölsorten. Die Entdeckung, daß vielfach dem natürlichen Petroleum optische Aktivität eigen ist, erheischte eine Revision der Englerschen Theorie; denn mit verschwindenden Ausnahmen[1]) sind Fett und Fettsäuren der heutigen Lebewesen optisch-inaktiv und könnten an sich nur ein Erdöl ohne Drehungsvermögen liefern.

Die optische Aktivität des Petroleums war noch nicht erklärt. Kurz nacheinander wurde von zwei Seiten im Jahre 1905 der Versuch dazu gemacht. J. Marcusson[2]) stellte die Hypothese auf, daß in dem tierische und vegetabilische Fette in kleinen Quantitäten begleitenden Cholesterin bzw. Isocholesterin die Muttersubstanz der drehenden Bestandteile des Erdöls zu erblicken sei. Eine andere Anschauung entwickelte ich selbst[3]), nach der die Eiweißkörper der petroleumbildenden Lebewesen eine reiche Quelle der optischen Aktivität des Naphtha darstellen. Denn das Proteinmolekül fügt sich aus fast lauter optisch-aktiven Bausteinen zusammen, aus denen, wie früher auseinander gesetzt ist[4]), eine Fülle von optisch-aktiven, zur Erdölbildung besonders befähigten Substanzen hervorgehen können.

Rein chemische Kondensationen, namentlich aber die natür-

---

[1]) Siehe hierüber weiter unten.

[2]) J. Marcusson, Chem. Rev. der Fett- u. Harzindustrie **12**, 1, 1905.

[3]) C. Neuberg, Sitzungsber. der Versammlung Deutsch. Naturf. u. Ärzte zu Meran vom 26. Sept. 1905; Chem.-Ztg. **1905**, 1045; Zeitschr. f. angew. Chem. **1905**, 1606.

[4]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **1**, 368, 1906.

lichen Vorgänge der Fäulnis und Autolyse[1]) sind es, die zur Bildung von **optisch-aktiven Fettsäuren aus Eiweiß** führen. Isolieren konnte ich in Gemeinschaft mit E. **Rosenberg** aus den Eiweißfäulnisprodukten zum Teil in beträchtlichen Mengen die früher übersehene rechtsdrehende Valeriansäure (d-Methyl-äthylessigsäure), die dextrogyre Capronsäure (d-Methyl-äthyl-propionsäure) und eine rechtsdrehende vielleicht mit Caprinsäure[2]) identische höhere Fettsäure.

Die Entstehungsmöglichkeiten optisch-aktiver Naphthakohlenwasserstoffe konnte ich sodann erweitern durch den von mir zusammen mit **Rosenberg**[3]) geführten Nachweis, daß aus **inaktiven Fetten durch enzymatische Vorgänge** unter Umständen **drehende Fettsäuren** entstehen können.

Nachdem gezeigt war, wie durch Fäulnisvorgänge resp. fermentative Prozesse aus vorhandenem aktiven Material (Eiweißkörpern) oder inaktiver Substanz (Fetten) optisch-aktive Fettsäuren entstehen können, bestand der letzte Teil der Beweisführung für die früher aufgestellte Theorie der Bildung optisch-aktiver Naphtha in der Umwandlung drehender Fettsäuren in optisch-aktives Erdöl.

Zu den Versuchen[4]) dienten jene optisch-aktiven Säuren, wie sie bei der Eiweißfäulnis auftreten. Es findet sich hauptsächlich die rechtsdrehende Capronsäure neben gleichfalls dextrogyrer Valeriansäure; wir wählten zunächst die sehr viel leichter zugängliche und billigere rechtsdrehende Form der Valeriansäure. Um den natürlichen Bedingungen möglichst nahe zu kommen, benutzten wir nicht die optisch-aktive Methyläthylessigsäure[5]) an sich, sondern ein Gemisch dieser mit reiner Oleinsäure (Kahlbaum); denn man muß sich vorstellen, daß die bei der Fäulnis ent-

---

[1]) A. Magnus-Levy, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 261, 1902.

[2]) Siehe diese Zeitschr. 1, 368, 1906; 7, 178, 1907.

[3]) Diese Zeitschr. 1, 374, 1906; 7, 191, 1907.

[4]) Eine kurze Mitteilung findet sich im Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss. vom 16. Mai 1907.

[5]) Zweckmäßig benutzt man die gewöhnliche Valeriansäure, die durch Oxydation aus Gärungsamylalkohol gewonnen wird und ein Gemisch von nichtdrehenden $\beta$-$\beta_1$-Dimethylpropionsäuren und der aktiven Methyl-äthylessigsäure ist. Benutzt wurde eine Valeriansäure mit einem Gehalt von 17,4% an aktiver Form.

stehenden Fettsäuren sich auch unter natürlichen Bedingungen mehr oder minder vollständig in den präformierten Fetten resp. deren Säuren lösen. Die Umwandlung des Eiweißes resp. der Aminosäuren durch Fäulnis in Fettsäuren vollzieht sich in wenigen Tagen, in denen von einer weitgehenden Umbildung des Fettes zu Petroleum noch keine Rede sein kann, so daß reichlich Zeit und Gelegenheit dazu vorhanden ist, daß die Fäulnisfettsäuren mit den präformierten Fettsubstanzen in innige Berührung kommen.

Bei den flüchtigen Fettsäuren nimmt die Löslichkeit in Wasser von der Essigsäure aufsteigend rasch ab, und gerade die vorwiegend in Betracht kommenden verzweigten Valerian- und Capronsäuren sind bereits mit Wasser nicht mehr mischbar und schwer löslich, während sie leicht von den stets vorhandenen Lipoidsubstanzen der ursprünglich vorhandenen Lebewesen aufgenommen werden.[1]) Die Verhältnisse nun, unter denen sich die natürliche Petroleumbildung, d. h. die Abspaltung von Kohlensäure bzw. Wasser sowie Kondensation, vollzieht, sind unbekannt, und die von Engler gewählten Versuchsbedingungen destruktiver Erhitzung höherer Fettsäuren auf 360—420° sind selbstverständlich willkürlich. Wir haben zum Teil die gleichen gewählt, teils unter etwas anderen gearbeitet.

In einigen Fällen wurde z. B. synthetisches Triolein oder Ölsäure, gemischt mit d-Valeriansäure, im zugeschmolzenen Schießrohr 20 Stunden auf 350° erhitzt. Das von unangegriffenem Ausgangsmaterial befreite und gereinigte Reaktionsprodukt erwies sich als ein optisch-aktives rechtsdrehendes Kohlenwasserstoffgemisch, das große Ähnlichkeit mit natürlichem Erdöl aufwies.

In anderen Fällen wurde die Kohlensäureabspaltung durch Zusatz von Kalk zu dem Gemisch von Öl- und optisch-aktiver Valeriansäure erleichtert und das Gemenge einer schnellen trockenen Destillation aus einem Kupferkolben bei möglichst

[1]) Die große Beständigkeit der Fettsäuren selbst während Jahrtausenden hat Berthelot (Compt. rend. de l'Acad. **124**, 1125, 1897; **140**, 177, 1905) festgestellt. Jüngst hat sich nun auch bei interessanten Untersuchungen von W. A. Schmidt (Zeitschr. f. allgem. Physiol. **7**, 369) an Mumien aus der 21. Dynastie gezeigt, daß flüchtige Fettsäuren (Butter- und Valeriansäure!) — den Mumien in den Mund gelegter Butter entstammend — im Gemisch mit den höheren säkulare Beständigkeit besitzen, d. h. selbst im feuchten Erdreich innerhalb 3000 Jahre nicht aus dem Lipoidgemisch ausgewaschen worden sind.

niederer Temperatur unterworfen. Das von säure- und ketonartigen Produkten befreite Destillat enthielt auch hier optischaktive und zwar rechtsdrehende Kohlenwasserstoffe von vollkommenem Petroleumcharakter. Wie im experimentellen Teil gezeigt werden wird, beschränkt sich das Drehungsvermögen dieses Petroleums keineswegs auf die niederen Fraktionen, wie sie durch Kondensation der in der angewandten Valeriansäure enthaltenen Butylradikale hätten entstehen können, sondern steigt vielmehr mit dem Siedepunkt, d. h. es findet sich auch in den Fraktionen, für die man gerade aus ihrer optischen Aktivität die synthetische komplizierte Bildungsweise folgern muß.

Rakusin hat nun festgestellt, daß das optische Drehungsvermögen des natürlichen Erdöls mit dem spezifischen Gewicht der Fraktionen steigt; da nun bei den Grenzkohlenwasserstoffen Dichte und Siedepunkt annähernd parallel gehen, gleicht bemerkenswerterweise auch in diesem Punkte das künstliche Petroleum dem Naturprodukt.

Damit wird aber auch der Cholesterintheorie eine Stütze entzogen. Denn gerade zur Erklärung des mit der Dichte steigenden Drehungsvermögens hielt Marcusson die Cholesterinkörper allein geeignet, da die künstliche Autoklavenspaltung usw. derselben ihm zwar kein Petroleum, sondern ein drehendes schmierölartiges Produkt von hohem Siedepunkt ergeben hatte. Es zeigt sich nun, daß man denselben Effekt bei völliger Abwesenheit von Substanzen der Cholesteringruppe allein mit Oleinsäure und einer optisch-aktiven Fettsäure erzielt.

Die von uns verwendeten Ausgangsmaterialien Oleinsäure I von Kahlbaum, sowie Valeriansäure sind ihrer Darstellung nach frei von Cholesterin und waren überdies auf einen etwaigen Cholesteringehalt geprüft.

Zugunsten eines ursächlichen Anteils des Cholesterins am Drehungsvermögen des heutigen Erdöls ist auch die Tatsache gedeutet worden, daß die hochsiedenden Petroleumfraktionen unsichere Cholesterinreaktionen geben. Wie wenig diese für die Beurteilung der ganzen Frage bedeuten, zeigt die überraschende Eigenschaft unserer künstlichen optisch-aktiven Petroleumdestillate aus Ölsäure plus Valeriansäure, in exquisiter Weise die Salkowskische Cholesterinreaktion und die $\delta$-Methylfurfurolprobe zu geben, während die Liebermannsche höchstens

schwach ausfiel[1]). Offenbar handelt es sich bei diesen Farbenreaktionen überhaupt nicht um Proben, die für das Cholesterin als solches charakteristisch sind, sondern um Reaktionen höhermolekularer Kohlenwasserstoffe[2]), wie sie auch bei der pyrogenen künstlichen und vielleicht ebenfalls bei der natürlichen Erdölbildung entstehen.

Die optische Aktivität unseres künstlichen Petroleums ist eine ziemlich beträchtliche; sie wäre vermutlich bei Anwendung von mehr aktiver Valeriansäure und Herabsetzung der Temperatur gestiegen. Das Vorzeichen der Polarisation ist das gleiche wie beim natürlichen Erdöl, doch ist auf die Drehungsrichtung kein entscheidender Wert zu legen, da sowohl natürliche, entgegengesetzt drehende Erdölsorten vorzukommen scheinen, als auch das Vorzeichen im Experiment mit der Verwendung anderer drehender Säuren sich ändern könnte.

Bei Anwendung von d-Capronsäure (Ölsäure + 10% ihres Gewichtes an d-Capronsäure) resultiert jedoch ein künstliches Erdöl, das gleichfalls stark rechts dreht, und zwar stärker als das aus d-Valeriansäure bereitete. Das bei 163—260° siedende Gemisch von Fettsäuren aus gefaultem Leim — hauptsächlich d-Valeriansäure, d-Capronsäure und d-Caprinsäure enthaltend — ergab bei gemeinsamer Destillation mit Ölsäure ein dextrogyres Kohlenwasserstoffgemisch. Ein solches liefert auch die Destillation von Ricinusölsäure für sich; hier ist es offenbar der aus letzterer abgespaltene optisch-aktive Octylrest

$$\begin{matrix} CH_3 \diagdown \\ CH_3 - (CH_2)_5 \diagup \end{matrix} CH -,$$

der die Bildung drehender Kohlenwasserstoffe zur Folge hat.

---

[1]) Es liegt dieses daran, daß der Farbenton der Liebermannschen Probe verdeckt wird. Das künstliche Petroleum enthält stark ungesättigte Verbindungen, welche mit der bei der Liebermannschen Reaktion angewendeten Schwefelsäure unter intensiver Braunfärbung reagieren. Daß eine Verdeckung stattfindet, kann man dadurch zeigen, daß ein solches künstliches Naphthaprodukt selbst bei Zusatz eines Drittels seines Gewichtes an reinem Cholesterin sich meistens nicht blau, sondern sogleich tief braun färbt.

[2]) Vgl. C. Neuberg und D. Rauchwerger, Festschr. f. E. Salkowski **1904**, 279, sowie C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 335, 1905.

Wenn man bedenkt, daß trotz so gewaltsamer Reaktionen, wie sie in der trockenen oder Druck-Destillation vorliegen, ein recht beträchtliches Drehungsvermögen durch optisch-aktive Fettsäuren in die künstlichen Petroleumkohlenwasserstoffe hineingetragen wird, und daß diese auch wieder bei gewöhnlichem Druck destilliert sind, muß man die Überlegenheit der Fäulnistheorie für die Erklärung der Petroleumaktivität anerkennen, zumal sie den Vorzug hat, unabhängig von jeder Voraussetzung über den tierischen oder pflanzlichen Ursprung der Muttersubstanz zu sein. Denn die auf Grund dieser Hypothese ausgeführten Versuche tragen den tatsächlichen Verhältnissen Rechnung, sowohl in bezug auf Verteilung der Aktivität im Endprodukt, als hinsichtlich dessen Reaktionen sowie auch im Hinblick auf die Mengen verfügbarer aktiver Muttersubstanz.

Denn schon früher ist auseinandergesetzt, wie relativ erhebliche Mengen optisch-aktiver Fettsäuren bei der Eiweißfäulnis entstehen und wie gering im Vergleich hiermit der Cholesteringehalt der natürlichen Fette ist.

Damit soll natürlich nicht ausgeschlossen werden, daß unter bestimmten lokalen Verhältnissen gelegentlich die optische Aktivität auf andere Ursachen zurückzuführen sein könnte, z. B. auf verwirklichte Bildung optisch-aktiver Fettsäuren durch enzymatische Spaltung racemischer Glyceride (siehe vorher), so wenig wie sich eine gelegentliche anorganische Bildungsweise kleiner Erdölmengen gänzlich von der Hand weisen läßt. Für die überwiegende Menge des im Schoße der Erde vorhandenen Petroleums wird man jedoch das Fett einstiger animalischer oder vegetabilischer Organismen als die Hauptquelle ansehen: die beim Verwesungsprozeß (Fäulnis, Autolyse) und vielleicht gelegentlich durch Fermentwirkung entstehenden, zum Teil optisch-aktiven Fettsäuren lösen sich in jenen Fetten resp. deren Fettsäuren und tragen hauptsächlich die Aktivität in das Gemisch der Zersetzungsprodukte, das Petroleum, hinein.

Aus einer gewöhnlichen Fettsäure (Ölsäure) und einer kleinen Menge drehender Säuren (d-Valeriansäure, d-Capronsäure, Ricinusölsäure) ist hier zum erstenmal ein optisch-aktives Kohlenwasserstoffgemisch mit allen wesentlichen Eigenschaften des natürlichen Erdöls gewonnen worden.

## Experimentelles.

(Mitbearbeitet von E. Rosenberg.)

Wie eingangs erwähnt, wurde auf verschiedene Weise die künstliche Gewinnung eines optisch-aktiven Petroleums unternommen.

Es wurde einmal unter den von Engler angegebenen Bedingungen ein Gemisch von rechtsdrehender Valeriansäure und reinster gewöhnlicher Ölsäure (Kahlbaum I) der Druckdestillation ausgesetzt, zum andernmal wurden die Kalksalze dieser Säuren einer schnellen trockenen Destillation unterworfen; ferner wurden die Säuren variiert.

Die zur Verwendung gelangte d-Valeriansäure wies ein spezifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = +3°$ auf, woraus sich ihr Gehalt an aktiver Form zu 17,4% berechnet. Ein Gemisch von 13 g dieser Säure mit 17 g reiner Ölsäure, d. h. 1 Teil d-Valeriansäure und die achtfache Menge Ölsäure, wurde im Schießofen 4 Stunden lang auf ca. 350° erhitzt. Nach dem Erkalten wurden die entstandenen gasförmigen Zersetzungsprodukte durch Öffnen der Capillare abgelassen und die Säuren im wieder zugeschmolzenen Rohr von neuem einer Temperatur von etwa 350° 4 Stunden hindurch ausgesetzt. Diese Operation wurde viermal wiederholt, bis das ursprünglich hellgelb gefärbte Gemisch in eine dunkle, stark grünlich fluorescierende Flüssigkeit verwandelt war, in welcher deutlich mehrere Schichten zu unterscheiden waren. Das Reaktionsprodukt wurde zur Entfernung saurer Beimengungen mit Kaliumcarbonatlösung, dann zur Entfernung von Aldehyden oder Ketonen mit konzentrierter Natriumdisulfitlauge und einer starken Hydroxylaminlösung (bereitet aus Hydroxylaminchlorhydrat + Natriumacetat) ausgeschüttelt und schließlich in ätherischer Lösung mit geglühter Pottasche getrocknet.

Nach Filtration und Verdunsten des Äthers hinterblieb ein rotbraun gefärbtes Öl, das zur weiteren Reinigung mehrmals destilliert wurde. Schließlich erhielten wir eine fast farblose Flüssigkeit von ausgesprochenem Naphthageruch, die mit hellleuchtender Flamme brannte und eine Rechtsdrehung entsprechend einem Gehalt von 0,6% Traubenzucker aufwies.

Dieses Material gab bei Anstellung der Cholesterinproben das eingangs mitgeteilte unerwartete Resultat.

Eine Reihe weiterer Versuche führte zu dem gleichen Ergebnis. Unter anderem wurde auch ein Versuch mit unverseiftem Triglycerid an Stelle der freien Ölsäure ausgeführt. Hier wurden 10 g derselben Valeriansäure und 20 g synthetisches Triolein den gleichen Operationen unterworfen. Auch hier war das in der beschriebenen Weise gewonnene Endprodukt optisch-aktiv. Dasselbe wurde fraktioniert destilliert. Es zeigte die Fraktion bis 120° eine minimale Rechtsdrehung, die von 120—180° eine Drehung entsprechend einer 0,2prozentigen Glucoselösung. Die Fraktion unter 200° wies im 2 Dezimeterrohr eine Rechtsdrehung auf, die einer Traubenzuckerlösung von 0,4—0,5% entsprach. Die Rechtsdrehung der noch höheren Fraktion entsprach in achtfacher ätherischer Verdünnung einer Traubenzuckerlösung von 0,1%, d. h. gleich 0,8%. Also steigt das Drehungsvermögen mit dem Siedepunkt und der Dichte.

Auch durch die trockene Destillation der Kalksalze konnten wir ein aktives Produkt erhalten. Es wurden 42 g Ölsäure und 15 g der oben beschriebenen Valeriansäure mit 10 g Calciumoxyd aus einer Kupferretorte einer schnellen trockenen Destillation unterworfen. Das Destillat wurde in Äther aufgenommen, durch Behandlung mit Soda von sauren Produkten und durch wiederholtes Schütteln mit Natriumdisulfit und Hydroxylamin von ev. gebildeten Ketonen befreit und schließlich über Kaliumcarbonat getrocknet. Nach Verdampfung des Äthers wurde der Rückstand zur Reinigung mehrfach destilliert.

Dieses Destillat glich nach Aussehen, Geruch und Brennbarkeit dem durch Druckdestillation der freien Säuren erhaltenen Produkt. Die erhaltene Flüssigkeit wies eine Totaldrehung von + 1° 10′ im Dezimeterrohr auf; es drehte

die Fraktion von 30—125° + 0,2°,
die Fraktion von 126—230° + 0,5°,
die Fraktion von 231—320° + 0,7°.

Die höheren waren zu dunkel, um die Durchsicht zu gestatten.

Ganz analoge Versuche, deren Wiedergabe im einzelnen daher unterbleiben kann, sind auch mit dem Gemenge aus

reiner Ölsäure plus **d-Capronsäure** sowie plus dem **Fäulnisfettsäurengemisch** vom Siedepunkt 160°—260° — enthaltend d-Valeriansäure, d-Capronsaure und vielleicht d-Caprinsäure — angestellt worden.

Das Produkt aus 100 g Ölsäure plus 11 g 95-prozentiger d-Capronsäure zeigte im 2-Dezimeterrohre eine Gesamtdrehung = + 1,88°.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Die | Fraktion | 33° | bis | 125° | drehte | = + 0,2° |
| ,, | ,, | 126° | ,, | 230° | ,, | = + 0,6° |
| , | ,, | 231° | ,, | 275° | ,, | = + 1,8° |
| ,, | ,, | 276° | ,, | 310° | ,, | = + 1,7° |
| ,, | ,, | 311° | ,, | 335° | ,, | = + 0,8° |

Das Produkt aus 100 g Ölsäure plus 18 g Fäulnisfettsäurengemisch wies im 2-Dezimeterrohre eine Gesamtdrehung = + 1,20° auf.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Die | Fraktion | 40° | bis | 120° | drehte | = + 0,1° |
| ,, | ,, | 121° | ,, | 200° | ,, | = + 0,8° |
| ,, | ,, | 201° | ,, | 260° | ,, | = + 0,5° |
| ,, | ,, | 260° | ,, | 305° | ,, | = + 1,1° |
| ,, | ,, | 305° | ,, | 335° | ,, | = + 0,9° |

Schließlich seien noch die Beispiele erwähnt, wo die Versuche mit einer Säure vom Typus der durch Enzymwirkung entstehenden ausgeführt sind, nämlich mit Ricinusölsäure[1]), die an sich selbstverständlich für die natürlichen Verhältnisse

[1]) Angewandt ist reinste Ricinusölsäure und nicht Ricinusöl selbst; denn die natürlichen Öle sind nicht immer leicht von drehenden Fremdkörpern zu befreien. Wo Terpene und Campherarten sowie eigentliche hydroaromatische Substanzen vorhanden sind, ist zu beachten, daß diese vielfach bei der destruktiven Destillation optisch-aktive Körper ergeben. Für die Naphthafrage selbst ist diese Körperklasse ohne Belang; denn im tierischen Organismus finden sich keine Vertreter derselben und in den in Betracht zu ziehenden Pflanzen keine nennenswerten Mengen. — Im obigen Falle muß das künstliche Kohlenwasserstoffgemisch nach den erwähnten Reinigungsprozessen noch über metallischem Natrium destilliert werden, um eine Verunreinigung mit Alkoholen (Octylalkohol) auszuschließen.

nicht in Betracht kommt. Hier betrug die Gesamtdrehung ja nach der Darstellung im 2-Dezimeterrohre + 0,4° bis + 0,9°.

---

Seit meinen ersten Mitteilungen über die Beziehungen der optisch-aktiven Fettsäuren zum Drehungsvermögen des Erdöls ist diese Frage auch von anderen Autoren erörtert.

So gibt J. Marcusson[1]) die Beteiligung der Fäulnisfettsäuren an der Erzeugung des Drehungsvermögens zu, aber nur in kleinerem Umfange als für das Cholesterin. Er meint, die Fäulnisfettsäuren müßten wegen ihrer Leichtlöslichkeit in Wasser ausgelaugt werden und könnten nur leichte, aber keine höheren Kohlenwasserstoffe mit optischer Aktivität erzeugen. Die Behauptung leichter Löslichkeit in Wasser trifft gerade für d-Valeriansäure, d-Capronsäure und d-Caprinsäure (siehe Seite 204) nicht zu. Gar nicht beachtet ist dabei noch der Umstand, daß sie sich im Gemisch mit anderen Lipoiden (Neutralfetten, hohen Fettsäuren) befinden und daraus noch schwerer auswaschbar sind, wie die erwähnten Befunde an 3000 Jahre alten Mumien besonders deutlich beweisen. Die Annahme, daß die niederen Fettsäuren allein leichte Kohlenwasserstoffe mit optischer Aktivität liefern, wird durch die Versuche geradezu widerlegt. Die Darstellung der höher molekularen ist aus niederen Fettsäuren und Ölsäure gelungen, ihre Herleitung aus Cholesterin ist auf Grund der Farbenreaktionen durchaus unsicher.

Besonders eingehend hat sich C. Engler[2]) die Revision seiner früheren Anschauungen angelegen sein lassen. Auch er erkennt die Bedeutung der Fettsäuren für die Bildung optisch-aktiver Erdölbestandteile durchaus an, spricht aber dem Cholesterin eine quantitativ überwiegende Rolle zu.

Ohne vor dem Abschluß bestimmter eigener Versuche zu Englers Ausführungen Stellung nehmen zu wollen, kann ich schon sagen, daß gerade Erwägungen in quantitativer Hinsicht gegen die größere Bedeutung des Cholesterins sprechen. Der Cholesteringehalt der Tiere und Pflanzen beträgt wenige Tausendstel ihrer Gesamtmasse, der Eiweißgehalt ist im Vergleich damit ein er-

---

[1]) Chem.-Ztg. **1907**, Nr. 33.

[2]) „Petroleum", Zeitschr. f. d. ges. Interessen der Petroleumindustrie usw. **2**, Nr. 20—23, 1907.

drückender. Alle neueren Erfahrungen drängen zu der Annahme, daß sehr niedrige Organismen die Muttersubstanzen des Erdöles abgegeben haben (Potonié). Je weiter wir aber im Reiche der Lebewesen hinabsteigen, eine um so größere Vorherrschaft des Proteins treffen wir an. Es hieße allen biologischen Grundsätzen Gewalt antun, wollte man den Organismen der untergegangenen Epochen eine wesentlich andere Verteilung der Körperbestandteile vindizieren.

Es ist wohl überhaupt gezwungen, auf eine einzige Verbindung die Entstehung der aktiven Petroleumkohlenwasserstoffe zurückzuführen. Viel natürlicher ist es, die Gesamtheit der dazu geeigneten Leibessubstanzen zu betrachten, und diskutabel, aber nicht unlösbar ist die Frage: welche Quantitäten standen zur Verfügung?

# Eiweißstoffwechsel bei Brombenzolvergiftung.

Von

**W. Mc. Kim Marriott und C. G. L. Wolf.**

(Department of Chemistry, Cornell University Medical College, New York City.)

*(Eingegangen am 15. August 1907.)*

Übersicht:



Die Erforschung des Stickstoff-Stoffwechsels hängt in seinen mannigfachen Phasen untrennbar mit der des Schwefelstoffwechsels zusammen, und während man in den letzten Jahren dem ersteren besonders hinsichtlich des intermediären Stoffwechsels große Aufmerksamkeit zuwandte, wurde der Rolle des Schwefels nur eine geringe Beachtung geschenkt.

Die günstigste Bedingung für die Erforschung einer intermediären Störung des Schwefelstoffwechsels bietet die Cystinurie.

Vor einigen Jahren hatten wir die Absicht, die damals in der Literatur befindlichen Angaben bezüglich dieser Stoffwechselanomalie nochmals zu prüfen. Wir konnten diese Pläne aus Mangel an klinischem Material nicht ausführen und nahmen deshalb für vergleichende Zwecke die Untersuchung der Brombenzolvergiftung auf, die vorher von Baumann (3) und besonders von seinem Schüler Goldmann (15) ausgeführt worden ist.

Inzwischen erschienen die sehr bemerkenswerten Beiträge von Loewy und Neuberg (24), denen die abweichenden Be-

funde von Alsberg und Folin folgten (2). Von diesem Zeitpunkte an schienen die Ergebnisse, die bei einem Studium der Erscheinungen von Brombenzolvergiftung zu finden sind, für uns erheblichen Wert zu besitzen, da sie einige Aufklärung über den Grund der verschiedenen Beobachtungen jener Forscher geben konnten.

Um indessen unsern jetzigen Resultaten eine erhöhte Bestätigung geben zu können, zögerten wir mit der Veröffentlichung, bis wir über den Stoffwechsel bei normalen Hunden unterrichtet waren. Die erste Serie dieser Untersuchungsreihen ist schon in dieser Zeitschrift veröffentlicht worden (28), und jene Ergebnisse dienen gewissermaßen als Standardwerte für die vorliegende Arbeit.

Die erste Untersuchung über Brombenzolwirkung wurde von Baumann und Preusse vorgenommen (3), die vermittels Analysen und Reaktionen das Verhältnis der ziemlich komplizierten Säure, die durch das Verfüttern der Substanz entsteht, zum Cystin feststellten. Fast zur selben Zeit war Jaffé (19), unabhängig davon, zu denselben Resultaten gekommen. In einer Mitteilung, die eine Fortsetzung der Arbeit von Baumann und Preusse bildet, erforschte ersterer die Reaktionen der Säure weiter und kam zu dem Schluß, daß sie verbunden mit einer Substanz, die er für Glucuronsäure hielt, ausgeschieden wurde. Die Isolierung dieser gepaarten Säure verursachte Schwierigkeiten, und soviel wir wissen, hat niemand weitere Mitteilungen hierüber gemacht.

Die Menge von Bromphenylmercaptursäure, die nach dem Füttern von Brombenzol ausgeschieden werden kann, ist recht groß. 100 g Brombenzol ergaben bei Baumanns Versuchen (3) 26—28 g der Säure, und Friedemann erhielt ähnliche Resultate (14).

Goldmann, der Baumanns Forschungen über die Säure fortsetzte, untersuchte unter dessen Leitung in etwas größerem Maßstabe die Erscheinungen, die durch Fütterung der Hunde mit Chlorbenzol auftreten (15). Das Verhalten des Gesamtsulfatschwefels zum Totalschwefel wurde während einer Zeit bestimmt, in welcher mit Hundekuchen gefüttert war; danach wurden noch 15 g Chlorbenzol verabfolgt. Die Gesamtschwefelausscheidung wuchs infolge der Oxydation von Eiweiß, und eine bedeutende Zunahme trat in dem Verhältnis des oxydierten zum nichtoxydierten

Schwefel ein. Hieraus schloß Goldmann, daß die Ausscheidung der Mercaptursäure eine Zunahme des nichtoxydierten Schwefels hervorbrächte. Diese Form der Schwefelausscheidung ist zuerst relativ, dann absolut vermehrt. Ein zweiter Schluß Goldmanns ist, daß der Schwefel, der im Harn infolge der Brombenzolvergiftung auftritt, unter normalen Bedingungen oxydiert wird und im Harn als Sulfat erscheint. In einem zweiten Kontrollversuche war die Menge des nichtoxydierten Schwefels dreimal größer wie die des oxydierten. Zur Feststellung der Vorstufe der Sulfate im Urin verabfolgt Goldmann einem Hund 2,02 g Cystin und fand, daß die Schwefelausscheidung etwas höher war als der Gehalt des gegebenen Cystins betrug. 66 % des als Cystin gegebenen Schwefels wurden in der Form von oxydiertem Schwefel ausgeschieden, während die rückständigen 34 % in Form von neutralem Schwefel eliminiert wurden. Es zeigte sich auch bei diesem Vorgang, daß die Alkalisulfate an Menge zunahmen. Die Äthersulfate wurden durch das gegebene Cystin nicht beeinflußt.

Die ganze Arbeit Goldmanns wird von der Idee beherrscht, daß die Erscheinung der Brombenzolvergiftung eine künstliche Cystinurie sei und die wenigen, die Interesse für die Frage hatten, teilen seither diesen Standpunkt.

Kurze Zeit nach der Anstellung dieser Versuche gab Mester (26) während einer Untersuchung über Cystinurie einem Manne Brombenzol und kam zu dem Schluß, daß der Vorgang beim Menschen anders als beim Hunde sei, da der neutrale Schwefel beim Menschen bei dieser Behandlung nicht zunahm.

Soviel wir wissen, sind dies die einzigen Versuche von Brombenzolvergiftung, bei denen über die Beziehungen der verschiedenen Schwefelformen zueinander gearbeitet worden ist. Erst einige Jahre später nahm Baumann mit Unterstützung seiner Schüler Krönig, Weiß (37), Fränkel (11) und Schmitz (5) die Frage nach der Natur der Mercaptursäuren wieder auf. Es wurden Synthesen von Mercaptursäuren ausgeführt und Konstitutionsformeln aufgestellt. Die synthetischen Produkte waren indessen nicht mit den aus dem Harn hergestellten identisch; man schrieb diesen Unterschied der optischen Inaktivität der künstlichen Verbindungen zu.

Als Ergebnis seiner Versuche legte Baumann seinerzeit dem Cystin die Natur einer $\alpha$-Amino-$\alpha$-thiosäure bei, und infolge-

dessen enthielt die Formel für die Mercaptursäuren das Schwefelatom in $\alpha$-Stellung. Die Natur der Mercaptursäuren wurde erst durch Friedemanns Untersuchung über die Konstitution des Cystins hinreichend geklärt (14). In seiner, in Hofmeisters Laboratorium ausgeführten Arbeit gelang es ihm, sowohl durch Untersuchung der Abbauprodukte der Mercaptursäuren wie auch durch Aufbau der Säure die Identität der Quelle des Cystins und der Halogenphenylmercaptursäuren zu zeigen.

Die Arbeit von Friedmann schien, mehr als irgend eine andere dafür zu sprechen, daß Vergiftung durch Brombenzol wirklich eine künstliche Cystinurie sei.

Von den anderen Halogenderivaten aromatischer Kohlenwasserstoffe sind die Halogentoluole (18) geprüft worden.

Man fand, daß beim Hund substituierte Hippursäuren zur Ausscheidung gelangten, während beim Kaninchen Benzoesäuren infolge Oxydation der Methylgruppe ausgeschieden wurden. Anscheinend wurden keine Mercaptursäuren gebildet. Auch Bromnaphthalin ist verabreicht worden, und hiernach wird anscheinend Mercaptursäure gebildet, doch ist die Frage nicht genügend untersucht worden.

Die Cystinurie hat seit Baumanns Zeit große Bedeutung vom physiologischen Standpunkt aus erlangt. Der Wert der vorliegenden Untersuchung steht in engem Zusammenhang mit den Fragen des Schwefelstoffwechsels, wie die Erforschung der Cystinurie ergeben hat; deshalb wird man die Punkte, die bei dieser Stoffwechselanomalie noch ungeklärt sind, wieder aufnehmen müssen, damit man die Ergebnisse bei Brombenzolvergiftung mit jenen vergleichen kann. Die Literatur hierüber ist vollständig in Neubergs Abhandlung im Handbuche von von Noorden wiedergegeben.

Bezüglich der Cystinurie sind gewisse Punkte noch nicht ganz klar. Die Ausscheidung von Diaminen, von Tetra- und Pentamethylendiamin, wurde vor etlichen Jahren von Baumann, sowie von Brieger und Stadthagen beobachtet (8); aber ob die Diaminausscheidung eine ständige Begleiterscheinung der Cystinurie ist, blieb noch unentschieden. Die Isolierung dieser Substanzen aus Harn ist nicht so befriedigend, wie sie sein könnte, und Simon, der in einer interessanten Übersicht der Cystinurieliteratur über einen Fall berichtet, in dem Diamine gefunden

wurden (33), neigt zu der Ansicht, daß Diamine ständige Begleiter des Cystins sind. Sicherlich hätte sorgsames Nachforschen wohl öfter ihre Anwesenheit dargetan.

Ein zweiter Punkt, in dem der Cystinuriestoffwechsel von der Norm abweicht, wurde schon vor vielen Jahren auf Grund von Beweisen angenommen, die man heutzutage als technisch nicht stichhaltig bezeichnen würde; es ist dieses eine Abnahme der Harnstoffausscheidung.

Dies wurde schärfer von Moreigne (27) ausgesprochen, der annahm, daß das Verhältnis von Harnstoffstickstoff zum Gesamtstickstoff im Harn abnehme. In Moreignes Arbeit, welche die Resultate von 10 Harnuntersuchungen bei einer cystinuriekranken Frau enthielt, wurde der Harnstoff durch die Hypobromitmethode nach Fällung mit Bleiacetat bestimmt. Das Ergebnis, das er mit dem Phosphorwolframsäureverfahren erhielt, blieb volle 10% hinter den Resultaten mit der Hybromitmethode zurück. Was Moreigne annahm, ist seitdem in exakter Weise von Alsberg und Folin (2) und von uns selbst (25), sowie von einem von uns in Gemeinschaft mit Shaffer in einer Abhandlung bestätigt worden, von der schon ein vorläufiger Bericht erschienen ist (39). Die nächste hervorstechende Eigenschaft der Cystinurie ist die Veränderung in den Beziehungen der verschiedenen Schwefelformen zueinander. Dies ist schon recht anschaulich von Mester (26) dargetan worden. Der nichtoxydierte Teil des Schwefels, der im Harn existiert, ist verhältnismäßig erheblich auf Kosten des oxydierten Teiles vermehrt. Unglücklicherweise ist es durch die Schwierigkeiten, mit denen die Bestimmung des Cystins im Harn verknüpft ist, unbestimmt, wieviel von dieser Zunahme dem Cystin und wieviel andern Schwefelverbindungen zuzuschreiben ist.

Mester, Moreigne sowie Alsberg und Folin haben dieses betont, konnten aber die Schwierigkeiten nicht bewältigen und haben in ihren Berechnungen die Zunahme des neutralen Schwefels als vom Cystin herrührend angenommen.

Außer dem Vorhandensein von Diaminen, das unsere Ausführungen nicht direkt betrifft, ist die letzte bemerkenswerte Tatsache, die wir hier besprechen wollen, das Vorhandensein von andern Aminosäuren neben Cystin im Harn eines Cystinuriekranken. Die beiden, die am meisten gefunden wurden, sind

Leucin und Tyrosin, und obwohl große Zweifel in viele Behauptungen bezüglich des Vorkommens dieser Substanzen im Harn unter anderen Bedingungen gesetzt werden müssen, ist hier kein Zweifel möglich.

Zum Beispiel in den Fällen von Moreigne, Fischer und Suzuki (10) und von Abderhalden und Schittenhelm (1) waren die Mengen der erhaltenen Säuren hinreichend, um ihre vollständige Identifizierung zu ermöglichen. Ebenso sicher ist indessen, daß sie durchaus nicht immer mit Cystin (24) zusammen auftreten.

In diesem Punkte, bezüglich der Gegenwart von Aminosäuren im Harn, differieren die jüngsten Beobachtungen.

Loewy und Neuberg beschrieben in einer schon vor ungefähr 3 Jahren veröffentlichten Arbeit eine sehr interessante Beobachtung über das Verhalten eines Cystinuriekranken nach dem Genuß von Aminosäuren. Diese Autoren fanden, daß während ihr Cystinuriker unter normalen Bedingungen keine Aminosäure ausschied, nach stomachaler Zufuhr dieser Stoffe die Substanzen z. T. unverändert im Harn erschienen.

Dies war der Fall mit Tyrosin und Asparagin. Bei Arginin und Lysin war es prinzipiell ähnlich. Diese Substanzen gaben Kohlendioxyd bei dem Durchgang durch den Körper ab und wurden als die entsprechenden Diamine Putrescin und Cadaverin ausgeschieden.

Mit Bezug auf Cystin selbst zeigte sich gleichfalls eine bemerkenswerte Tatsache. Während der Cystinuriekranke die Fähigkeit besaß, Blasenstein-Cystin von einem besonderen Blasenstein in Sulfate umzuwandeln, ging aus Haar hergestelltes Eiweißcystin unverändert durch den Organismus und erschien angenähert quantitativ im Harne.

Dies war auch der Fall mit Cystin, das durch den Harn des Cystiunriekranken selbst geliefert war.

In der zweiten Arbeit berichten Loewy und Neuberg über Ergebnisse einer weiteren Reihe von Versuchen an demselben Patienten (24). Bei diesen Experimenten erschienen 20% des genommenen Glykokolls wieder. Andererseits schienen die Peptide, Glycylglycin und Glutokyrin in höherem Maße wie beim normalen Menschen umgesetzt zu werden. Selbst die Zufuhr der abiureten Produkte einer Verdauung von 106 g trockenen Fibrins führten zu keiner vermehrten Ausscheidung des Cystins im Harne. In einigen anderen Fällen von Cystinurie, d. h. in solchen, wo zur Zeit der Ex-

perimente jedoch kein Cystin ausgeschieden wurde, wurden Aminosäuren verbrannt, so wie es von anderen Forschern festgestellt war.

Diesen Resultaten stehen diejenigen von Alsberg und Folin gegenüber. Diese Forscher unternahmen eine umfangreiche Prüfung des Stoffwechsels bei Cystinurie. Sie konnten für ihren Patienten jedenfalls zeigen, daß die Fähigkeit dieses Cystinuriekranken, Aminosäuren umzusetzen, sich nicht von der eines normalen Menschen unterschied.

Wie man sieht, besteht ein großer Unterschied in den Ergebnissen der beiden Parteien von Forschern besteht. Loewy und Neuberg heben in ihrer Kritik der Versuchsergebnisse von Alsberg und Folin hervor, daß der Patient der letzteren nach der Zufuhr von Cystin mehr Reststickstoff als während der Kontrolltage ausschied. Hieraus schließen sie, daß zumindest ein Teil des Cystins in einer unvollkommen oxydierten Form ausgeschieden wurde.

Es ist hier nicht der Platz, auf die sehr interessanten, theosetischen Erörterungen einzugehen, die Loewy und Neuberg an ihre Versuchsergebnisse geknüpft haben. Es genügt uns, zu sagen, daß, wenn ihre interessanten und wichtigen Resultate noch in anderen Fällen wiedergefunden werden, dadurch die Theorien über den Stoffwechsel eine Änderung erfahren könnten.

Wir wiederholen kurz die Tatsachen, die besonders in Verbindung mit der Cystinurie zutage gefördert worden sind:

a) Verhältnismäßig klein ist der Bruchteil, den der Harnstoffsticksstoff vom Gesamtstickstoff ausmacht.

b) Der Gehalt an neutralem Schwefel ist hoch, selbst wenn eine Nahrung verabfolgt ist, die praktisch keinen organischen Schwefel enthält.

c) Es kann eine Ausscheidung von anderen Aminosäuren als von Cystin bei gewissen Cystinuriekranken vorkommen.

d) Bei gewissen Cystinuriekranken findet eine Ausscheidung von Aminosäuren statt, wenn diese per os eingenommen waren, obgleich der Harn dieser Patienten diese Substanzen normalerweise nicht enthält.

Wenn nun der pathologische Zustand, der durch Verabfolgung von Brombenzol hervorgerufen ist, in Wirklichkeit eine künstliche Cystinurie wäre, so müßte man imstande sein, einige oder alle diese ungewöhnlichen Erscheinungen künstlich herbeizuführen.

Nachdem wir die Punkte besprochen haben, die bei der Cystinurie noch unentschieden sind, werden wir nun zu denjenigen kommen, die bei der Brombenzolvergiftung noch nicht aufgeklärt worden sind.

Es sind die folgenden:

a) Entspricht der Stoffwechsel bei Brombenzolvergiftung demjenigen, den wir bei der Cystinurie gesehen haben? oder besser, existiert hier eine entsprechende Abnahme in dem Verhältnis des Harnstoffsstickstoffs zum Gesamtstickstoff?

b) Zeigt sich die Wirkung von hoher und niedriger Eiweißnahrung bei der Brombenzolvergiftung so, wie sie sich beim normalen Hunde zu erkennen gibt?

c) Welches ist die Wirkung eines Hungerzustands auf das Verhältnis von ausgeschiedenem Schwefel und Stickstoff unter dem Einfluß von Brombenzol?

d) Fährt das Tier noch fort, im Hungerzustand eine nennenswerte Menge von Mercaptursäure auszuscheiden? Mit andern Worten, ist der Umsatz von Körpereiweiß von denselben Erscheinungen wie der Umsatz von Nahrungseiweiß begleitet?

e) Kann sich der Hund unter dem Einfluß von Brombenzol wie der Cystinuriker von Loewy und Neuberg verhalten oder nicht, d. h. ist die Fähigkeit der Assimilation von Aminosäuren dieselbe nach der Verabfolgung von Brombenzol wie vorher?

f) Wie bald nach der Zuerteilung von Brombenzol tritt die die Veränderung in der Art des Stoffwechsels zutage?

Der Versuch, die genannten Fragen zu beantworten, war der Zweck der folgenden Arbeit.

Die Methoden der Analyse waren dieselben, die Österberg und Wolf in ihrer Arbeit über den Stoffwechsel beim normalen Hund angewendet haben.[1])

Zu dieser Reihe von Analysen dienten Hündinnen als Versuchstiere, der Harn wurde täglich zu bestimmter Zeit vermittels Katheter entnommen.

---

[1]) Da die Wirkung von Magnesiumchlorid auf Bromphenylmercaptursäure bei 160° eine Frage war, die vorher beantwortet werden mußte, wurde etwas von der Säure dargestellt und mit dem Chlorid erhitzt, genau wie bei einer Harnstoffbestimmung. Dabei wurde kein Ammoniak abgespalten.

Das angewandte Brombenzol war teilweise von uns selbst aus tiophenfreiem Benzol hergestellt und hatte einen Siedepunkt von 154°—155 (unkorrigiert), zum Teil bezogen wir es von Kahlbaum. Beim nochmaligen Destillieren sott es bei 155° (unkorrigiert). Das Präparat wurde in Gelatinekapseln gegeben, in welche es aus einer graduierten Bürette in Mengen von 0,05 g eingefüllt worden war. Die Substanzmenge wurde aus dem spezifischen Gewicht berechnet. Es wäre vielleicht besser gewesen, die Substanz in Keratinkapseln zu verabreichen, um so ihr Freiwerden im Magen zu verhindern. Dies war jedoch nicht geschehen, und es erwachsen auch in keinem Fall Schwierigkeiten infolge Magenstörungen.

In allen Fällen wurde das Tier in einer ziemlich langen Vorperiode gehalten, in der das Gewicht des Tieres und der Gesamtstickstoff im Harn täglich geprüft wurden. Bei den Fütterungsexperimenten wurden die Hunde praktisch im Stickstoffgleichgewicht gehalten und dieses bei den Hungerversuchen gewahrt.

## *Serie I.*

### *Der Einfluß von Brombenzol auf den Stoffwechsel der Hunde, die entsprechende Mengen Eiweiß, Fett und Kohlehydrate erhielten.*

#### Versuch I. Hund I.

Benutzt wurde ein Hund, der am Anfang des Versuchs 6620 g wog. Die Nahrung bestand aus 150 g magerem Fleisch, 70 g Zwiebackpulver und 35 g Speck mit 10 g Knochenasche. Der Brennwert der Nahrung betrug annähernd 780 Calorien, was einem Calorienwert von 113 Calorien pro kg gleichkommt, mehr also, als ein Tier wirklich an Calorien bedarf. Die Stickstoffmenge in der Nahrung betrug 5,31 g, das Fett 44,8 g. Der Gesamtschwefel der Nahrung betrug 0,176 g. Die Nahrung wurde in zwei Portionen zugeteilt, morgends und abends. Die Menge des verabreichten Brombenzols betrug 2,0 g täglich.[1])

Am Schluß des Versuchs wog das Tier 6220 g, was einen Gewichtsverlust von 400 g bedeutet. Tabelle I gibt die analytischen Resultate, die man bei diesem Versuch erhielt.

---

[1]) Von der Zeit, in der Brombenzol verabreicht wurde, wird als „Fütterungsperiode“ gesprochen.

**Versuch I. Hund I.**

**Tabelle I A.**

| Gewicht | Volumen | Spezifisches Gewicht | Gesamt-Stickstoff | Ammoniak-Stickstoff | Harnstoff-Stickstoff | Kreatinin-Stickstoff | Phosphor | Chlor | Gesamt-Schwefel | Gesamtsulfat-Schwefel | Alkalisulfat-Schwefel | Ätherschwefelsäuren-Schwefel | Neutraler Schwefel | Gewicht der Faeces | Stickstoffgehalt der Faeces | Fett in den Faeces |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6620 | 171 | 1031 | 5,315 | 0,490 | 4,398 | 0,039 | 0,066 | 0,324 | 0,348 | 0,224 | 0,209 | 0,015 | 0,124 | — | — | — |
| 6620 | 171 | 1031 | 4,752 | 0,468 | 4,738 | — | 0,132 | 0,343 | 0,283 | 0,196 | 0,185 | 0,011 | 0,087 | 27,8 | 0,859 | 1,750 |
| 6640 | 157 | 1058 | 4,441 | 0,301 | 3,717 | 0,052 | 0,144 | 0,401 | 0,296 | 0,190 | 0,179 | 0,011 | 0,106 | 21,5 | 0,722 | 1,205 |
| 6640 | 173 | 1031 | 4,526 | 0,166 | 3,899 | — | 0,137 | 0,515 | 0,358 | 0,194 | 0,188 | 0,006 | 0,164 | 7,0 | 0,268 | 0,560 |
| 6540 | 193 | 1036 | 5,400 | 0,225 | 4,639 | 0,051 | 0,160 | 0,420 | 0,267 | 0,114 | 0,085 | 0,029 | 0,153 | 22,2 | 0,595 | 1,105[1] |
| 6620 | 165 | 1043 | 4,906 | 0,152 | 5,125 | 0,045 | 0,178 | 0,439 | 0,320 | 0,159 | 0,104 | 0,055 | 0,161 | 14,5 | 0,410 | 1,630[1] |
| — | 160 | 1036 | 5,922 | 0,152 | 5,112 | 0,059 | 0,151 | 0,439 | 0,322 | 0,147 | 0,053 | 0,094 | 0,175 | 18,5 | 0,366 | 3,480[1] |
| 6440 | 224 | 1034 | 5,950 | 0,225 | 5,039 | 0,048 | 0,126 | 0,649 | 0,286 | 0,120 | 0,065 | 0,055 | 0,166 | 31,0 | 0,830 | 3,940[1] |
| 6320 | 142 | 1042 | 4,484 | 0,126 | 3,916 | — | 0,156 | 0,324 | 0,252 | 0,100 | 0,039 | 0,061 | 0,152 | 27,6 | 0,791 | 2,650[1] |
| 6160 | 202 | 1039 | 6,063 | 0,183 | 5,316 | 0,053 | 0,174 | 0,611 | 0,287 | 0,135 | 0,064 | 0,071 | 0,152 | 20,4 | 0,498 | 2,060[1] |
| 6240 | 162 | 1032 | 4,498 | 0,163 | 3,879 | 0,036 | 0,079 | 0,515 | 0,218 | 0,130 | 0,120 | 0,010 | 0,088 | 12,9 | 0,302 | 0,568 |
| 6260 | 150 | 1032 | 3,624 | 0,132 | 3,064 | — | 0,145 | 0,649 | 0,193 | 0,180 | 0,171 | 0,009 | 0,013 | 20,0 | 0,522 | 1,420 |
| 6000 | 150 | 1035 | 3,920 | 0,673 | 2,946 | — | 0,110 | 0,545 | 0,255 | 0,199 | 0,188 | 0,011 | 0,056 | 19,3 | 0,480 | 1,040 |
| 6220 | 140 | 1035 | 3,652 | 0,910 | 2,403 | — | 0,099 | 0,611 | 0,252 | 0,187 | 0,177 | 0,010 | 0,065 | 14,6 | 0,328 | 0,715 |

[1] 2 Gramm Brombenzol pro Tag.

**Versuch I. Hund I.**

Tabelle I B. Verhältniszahlen.

| Ammoniak-N: Gesamt-N | Harnstoff-N: Gesamt-N | Kreatinin-N: Gesamt-N | Reststickstoff: Gesamt-N | Gesamt-Schwefel: Gesamt-Stickstoff | Gesamtschwefelsäure: Gesamt-N | Alkalisulfat-S: Gesamt-N | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamt-N | Gesamt Sulfat-S: Gesamt-S | Alkalisulfat-S: Gesamt-S | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamt-S | Neutraler Schwefel: Gesamt-Schwefel | Neutraler S: Reststickstoff | Neutraler S: Kreatinin-N | Gesamt-S: Harnstoff-N | Gesamtsulfat-S: Harnstoff-N | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamtsulfat-S | Neutraler S: Gesamtsulfat-S | Ammoniak-N: Harnstoff-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9,2 | 82,8 | 0,7 | 8,0 | 6,6 | 4,2 | 3,9 | 0,027 | 64 | 60 | 4,3 | 3,6 | 29 | 320 | 7,9 | 5,1 | 6,7 | 55 | 10,0 |
| 9,9 | 78,7 | — | 11,4 | 5,9 | 4,1 | 3,9 | 0,023 | 69 | 65 | 3,9 | 31,0 | 16 | — | 7,6 | 5,3 | 5,6 | 44 | 13,0 |
| 6,8 | 83,6 | 1,2 | 9,6 | 6,7 | 4,3 | 4,1 | 0,025 | 64 | 60 | 3,7 | 36,0 | 25 | 200 | 7,7 | 5,1 | 5,8 | 56 | 17,0 |
| 3,6 | 86,3 | — | 10,1 | 7,9 | 4,3 | 4,1 | 0,013 | 54 | 52 | 1,7 | 46,0 | 35 | — | 9,1 | 5,0 | 3,1 | 84 | 4,2 |
| 4,1 | 86,0 | 0,9 | 11,9 | 4,9 | 2,2 | 1,6 | 0,530 | 43 | 32 | 11,0 | 57,0 | 24 | 300 | 5,8 | 2,5 | 25,0 | 134 | 4,9 |
| 3,1 | 84,2 | 0,9 | 12,7 | 6,5 | 3,2 | 2,1 | 1,100 | 49 | 32 | 17,0 | 50,0 | 26 | 360 | 7,8 | 3,9 | 34,0 | 100 | 3,7 |
| 2,5 | 86,4 | 1,0 | 11,1 | 5,4 | 2,5 | 0,9 | 1,600 | 46 | 17 | 29,0 | 54,0 | 27 | 300 | 6,3 | 2,9 | 65,0 | 120 | 3,0 |
| 3,7 | 84,7 | 0,8 | 11,6 | 4,8 | 2,0 | 1,1 | 0,930 | 42 | 22 | 20,0 | 58,0 | 24 | 350 | 5,7 | 2,4 | 46,0 | 140 | 4,5 |
| 2,8 | 87,2 | — | 10,0 | 5,6 | 2,2 | 0,9 | 1,400 | 40 | 15 | 24,0 | 60,0 | 34 | — | 6,4 | 2,5 | 61,0 | 150 | 3,2 |
| 3,0 | 87,6 | 0,9 | 9,4 | 4,7 | 2,2 | 1,0 | 1,200 | 47 | 22 | 25,0 | 49,0 | 25 | 260 | 5,4 | 2,5 | 52,0 | 110 | 3,4 |
| 3,6 | 86,3 | 0,8 | 10,1 | 4,8 | 2,9 | 2,7 | 0,220 | 59 | 55 | 4,5 | 40,0 | 19 | 240 | 5,6 | 3,3 | 7,7 | 66 | 4,2 |
| 3,6 | 84,6 | — | 11,8 | 5,4 | 5,0 | 4,7 | 0,250 | 93 | 88 | 4,6 | 6,7 | 30 | — | 6,3 | 5,9 | 5,0 | 72 | 4,3 |
| 17,1 | 75,4 | — | 7,5 | 6,5 | 5,1 | 4,8 | 0,280 | 78 | 74 | 4,3 | 22,0 | 19 | — | 8,6 | 6,8 | 5,5 | 28 | 23,0 |
| 24,8 | 65,8 | — | 9,4 | 6,9 | 5,1 | 4,9 | 0,270 | 74 | 70 | 4,0 | 26,0 | 19 | — | 10,0 | 7,8 | 5,3 | 35 | 38,0 |

## Volumen und spezifisches Gewicht.

Weder Volumen noch spezifisches Gewicht des Harns wurden während des Versuchs merklich geändert, obgleich man bei den deutlichen mikroskopisch erkennbaren Veränderungen der Nieren die gewöhnlichen Begleiterscheinungen einer akuten Nierenentzündung hätte erwarten können. Es ist ferner bemerkenswert, daß auch kein Vorhandensein einer bestimmbaren Menge Albumins zu beobachten war.

## Gesamtstickstoff im Harn.

Die Wirkung der Verabreichung von Brombenzol auf die Ausscheidung von Stickstoff stellt sich unmittelbar ein, und die Steigerung, die der Gifteinnahme folgt, kann man in jedem Versuch beobachten. Der anfänglichen Zunahme folgt eine zweite, noch größer als die erste. Sobald als die Verabfolgung des Präparates aufhört, findet eine plötzliche Abnahme in der Ausscheidung statt, und der Organismus sucht den Stickstoffverlust, der schon eingetreten ist, auszugleichen.

Die durchschnittliche Höhe der Ausscheidung während der Vorperiode war 4,8 g, während der Fütterungsperiode 5,5 g, während der Nachperiode 4,0 g.

## Stickstoffgleichgewicht.

In diesem Versuch war das Stickstoffgleichgewicht negativ, obgleich kein so ausgesprochener Gewebeverlust sich zeigte, wie in einigen der folgenden Fälle. Man wird ferner beobachten, daß die Tiere eine bemerkenswerte individuelle Verschiedenheit in ihrem Widerstand gegen das Gift an den Tag legen. Teilweise liegt dies zweifellos an den Ernährungsbedingungen. Die Tiere zeigen auch ein entschiedenes Bestreben, zur Norm zurückzukehren, sobald die Verabfolgung des Giftes aufgehört hat. Während dieses Versuches betrug der Gesamtverlust an Stickstoff 4,34 g.

Da der Gewichtsverlust des Tieres 460 g betrug und man annimmt, daß 4,34 g Stickstoff 130 g Muskelgewebe entsprechen, war der Stickstoffverlust an Gewebe gleich 28% vom Gesamtverlust des Gewichts.

## Gesamtharnstoffstickstoff.

Wie einer von uns in einer früheren Arbeit auseinandergesetzt hat (28), haben wir mit Gesamtharnstoff die Art von Stickstoff bezeichnet, die durch den Harnstoffstickstoff plus Ammoniakstickstoff dargestellt wird, und wir möchten diesem Wert besondere Bedeutung zumessen, da er die desamidierende Fähigkeit des Organismus anzeigt. Da diese Funktion die einzige ist, die bei der Cystinurie direkt beeinflußt wird, so ist ihre Würdigung von hohem Interesse für die Erforschung der Brombenzolvergiftung.

Wir werden bei diesem Versuch sehen, daß die Fähigkeit des Tieres, Eiweißstickstoff in Ammoniak und weiter in Harnstoff umzuwandeln, nicht erheblich vermindert ist. Der relative Wert bleibt mithin 2% von dem, den er vor der Verabfolgung des Präparates betrug. Wenn man die Resultate heranzieht, die Alsberg und Folin bei der Cystinurie gewonnen haben, findet man durch einen Vergleich unter ähnlichen Bedingungen, daß der durchschnittliche Gesamtharnstoffwert beim Cystinuriekranken

wenigstens 6% niedriger als der eines normalen Menschen war, der dieselbe Nahrung bekommen hatte.

### Ammoniakstickstoff.

Während der Fütterungsperiode nahm die absolute Ammoniakmenge ab, und dies führt in Verbindung mit der vermehrten Stickstoffausscheidung zu einem niedrigen Prozentsatz an Stickstoff, der in Form von Ammoniak ausgeschieden wurde. Hieraus folgt, daß die Mercaptursäure während des Fütterversuchs wahrscheinlich nicht in beträchtlicher Menge in Verbindung mit Ammoniak ausgeschieden wurde.

### Harnstoffstickstoff.

Hinsichtlich dieses Punktes fällt zuerst die Verschiedenheit zwischen dem Stoffwechsel bei Cystinurie und Brombenzolvergiftung auf. Während der Vorperiode war das Verhältnis von Harnstoffstickstoff 79—82%. Während der Verabfolgung des Präparates stieg der Wert auf 86%, eventuell auf 87%. Nachdem die Wirkung der Substanz aufgehört hatte, trat ein plötzlicher Fall in dem Verhältnis ein. Dies ist gänzlich, wie wir sehen werden, der Zunahme von Ammoniakstickstoff zuzuschreiben. Woher diese Acidosis kam, können wir nicht sagen, aber sie ist aus beiden Versuchen ersichtlich, und sie ist sicherlich keinem Irrtum in der Bestimmung von Ammoniak oder Harnstoff zuzuschreiben.[1])

### Kreatininstickstoff.

Die Bestimmung dieser Substanz im Harn ist leider unvollständig. Zur Zeit der Versuche waren wir noch nicht im Besitz eines Colorimeters, und die Proben wurden bis zu seiner Ankunft aufbewahrt. In dieser Zeit waren einige Proben zersetzt. Deshalb führen wir nur wenige Analysen auf, und aus demselben Grunde können wir auch nicht die Menge des Reststickstoffes angeben, der aus der N-Menge eine Beurteilung der ausgeschiedenen Cystinquantitäten gestattet.

---

[1]) Außer wenn anders angegeben, sind alle Stickstoffbestimmungen in dieser ganzen Arbeit doppelt gemacht worden.

## Gesamtschwefel.

Der Gesamtschwefel wies während des ganzen Versuchs eine negative Bilanz auf, wenn man den Eiweißschwefel als den zugeführten Gesamtschwefel ansieht. Die Knochenasche jedoch enthielt eine merkliche Menge Schwefel. Dies wurde erst entdeckt, als der Versuch beendet war. Zweifellos trug dieser Schwefel in einem gewissen Betrage zum Gesamtharnschwefel bei.

Im ganzen nahm die Gesamtschwefelausscheidung während der Brombenzolfütterung nicht zu. Die durchschnittliche Ausscheidung betrug während der Vorperiode täglich 0,321 g, während der Fütterungsperiode 0,285 g. Angesichts der vermehrten Eiweißzersetzung, die sich durch die Zunahme der Stickstoffausscheidung offenbart, gelangt man zu dem Schluß, daß der Umsatz mehr Nichtschwefelstoffe betrifft, als es normalerweise der Fall ist. Jedenfalls findet in diesem Versuch keine Schwefelausfuhr statt, wie man nach den Veränderungen in dem Stickstoffwechsel hätte erwarten können.

## Gesamtschwefelsäure-Schwefel.[1])

Der Gesamtschwefelsäure-Schwefel nahm deutlich unter dem Einflusse der Brombenzolfütterung ab. Die durchschnittliche Ausscheidung dieses Anteils betrug 0,201 g während der Vorperiode, sie ging bis auf 0,129 g während der Fütterungsperiode herab, mit einer sehr deutlichen Neigung, in der Nachperiode wieder zu steigen. Diese Tatsache deutet auf eine bedeutende Abnahme in der oxydativen Fähigkeit des Organismus als eine Folgeerscheinung der Brombenzoldarreichung. Dieses geht deutlicher aus dem Verhältnis vom Gesamtschwefelsäure-Schwefel zum Gesamtschwefel hervor. Während der Vorperiode wurden 64% des Gesamtschwefels in dieser Form ausgeschieden, während das Verhältnis in der Fütterungsperiode auf 40% herabgesunken war.

Unserer Ansicht nach ist dies ein schlagender Beweis für die Theorie, daß augenscheinlich den Vorgängen, die zur Sul-

[1]) Die Methoden für die Bestimmung der Schwefelsäureausscheidung wurden vermittels einer Bromphenylmercaptursäurelösung kontrolliert; dabei wurden keine wägbaren Mengen von Gesamtsulfat- oder Äthersulfat-Schwefel erhalten.

fatbildung führen, Oxydationserscheinungen zugrunde liegen, während die den Umsatz des Harnstoffs erhöhende Stoffwechselerscheinung im wesentlichen kein oxydierender Prozeß, sondern ein hydrolytischer ist. Während der Zeit, in der sowohl die relativen wie die absoluten Werte für die Sulfate heruntergegangen sind, ist das Verhältnis von Harnstoffstickstoff zum Gesamtstickstoff praktisch unverändert dasselbe geblieben. Beim Stoffwechsel der normalen Tiere ist diese Tatsache nicht beobachtet worden, denn wie schon in einer früheren Arbeit gezeigt wurde, sind die Sulfate und der Harnstoff bei niedriger Stickstoffnahrung relativ bis zum selben Grade heruntergegangen. Wir haben also im Stoffwechsel bei geringer Stickstoffnahrung einen Vorgang, der sich scharf von dem bei Brombenzolvergiftung unterscheidet. Bei dem ersteren sind sowohl Hydrolyse wie Oxydation gleichmäßig vermindert.

### Alkalisulfat-Schwefel.

Die Wirkung von Brombenzol auf die Ausscheidung der Alkalisulfate tritt alsbald deutlich hervor und dauert während des ganzen Versuchs an. Die Abnahme in der Ausscheidung dieser Schwefelform ist höchst auffallend. Am fünften Tage der Zufuhr war die Ausscheidung praktisch beendet. In der Nachperiode setzte eine starke Steigerung gegen den normalen Zustand ein, aber während des gegenwärtigen Versuches wurde niemals eine normale Ausscheidung erhalten.

### Ätherschwefelsäure-Schwefel.

Bei der Zufuhr von Halogenbenzol steigt die Menge der Ätherschwefelsäuren plötzlich weit über die in der Kontrollperiode und die bei normalen Tieren beobachtete. Wenn die Vorperiode bei diesem Versuch als die normale angesehen wird, war der Äthersulfatschwefel am dritten Tage der Fütterungsperiode sechsmal höher. Diese Zunahme an Ätherschwefelsäuren rührt fraglos von dem Bestreben seitens des Tieres, die durch die Oxydation von Brombenzol entstandenen Phenole unschädlich zu machen. Dieses Verhalten wurde schon vor vielen Jahren von Schaffer und auch von Baumann beobachtet. Es ist merkwürdig, daß Goldmann in seiner Arbeit über die Wirkungen des Brombenzols

die als Ätherschwefelsäure ausgeschiedene Schwefelmenge nicht bestimmt hat.

Im Zusammenhang mit der erheblichen Ausscheidung von Ätherschwefelsäuren ist betreffs der oxydativen Fähigkeit des Organismus eine sehr interessante Frage angeschnitten.

Während die Fähigkeit, den Cystinkomplex in Sulfate umzuwandeln, anscheinend abgenommen hat, ist der Organismus vollkommen imstande, den Benzolkern zu Phenol zu oxydieren. Es ist jedoch klar, daß man im allgemeinen auf eine geringere oxydative Fähigkeit nicht aus dem Fehlen einer Schwefelform oder einer anderen Verbindung schließen darf.

Wie die Ergebnisse zeigen, ist praktisch der ganze oxydierte Schwefel in der Form von Ätherschwefelsäuren ausgeschieden. Wenn man eine Substanz ausfindig machen könnte, die sich mit der Cystingruppe wie Brombenzol verbinden, andererseits aber nicht teilweise in Phenol umgewandelt würde, hätte man einen Körper, mit dessen Hilfe man die Cystinurie weit vollkommener nachzuahmen vermöchte wie durch Vergiftung mit Brombenzol. Auf der Suche nach einer solchen Substanz sind wir schon begriffen.

## Neutraler Schwefel.

Unsere Ergebnisse bezüglich des neutralen Schwefels bestätigen diejenigen von Goldmann vollständig, nur haben wir infolge der kleinen Mengen Brombenzols, die bei diesen Versuchen angewandt wurden, keine so deutlichen Ausschläge erhalten.

Bei Auftragung auf eine Kurve bildet der neutrale Schwefel den Antipoden des Alkalisulfatschwefels, und man kann als sicher annehmen, daß aller Schwefel, der das Übermaß an neutralem Schwefel gebildet hat, das heißt die Mercaptursäure, auf Kosten des Alkalisulfatschwefels zur Ausscheidung kam.

## Halogene.

Es wurden Versuche angestellt, um die Menge des organischen Broms durch Destillieren des Harns mit Schwefelsäure und Salpetersäure zu bestimmen (35). Das Chlor, das im Harn direkt durch die Volhardsche Methode ermittelt war, wurde dann von dem so erhaltenen Wert abgezogen. Die Ergebnisse waren nicht zufriedenstellend. Die Menge des organischen Broms im Harn

war so klein, daß wir schließlich von ihrer Bestimmung Abstand nahmen.

## Phosphor.

Der Phosphorgehalt, der nach der Uranacetatmethode ermittelt war, nahm während der Fütterungsperiode zu. In Anbetracht der Tatsache, daß sehr bedeutende Mengen Phosphate mit der Knochenasche verfüttert wurden, haben wir nach keinen Beziehungen dieser Substanz zu den anderen Bestandteilen des Harns gefahndet.

## Faeces.

Außer einer gewissen Darmreizung, die man sehr deutlich bei der Sektion bemerkte, bestand eine bedeutende Abnahme in der Fähigkeit des Tieres, Fett zu resorbieren. Auf der Höhe des Versuches wurde zweimal so viel Fett wie in der Vorperiode ausgeschieden. Es ist schwer zu sagen, daß ähnliche Bedingungen hinsichtlich des Eiweißes vorhanden waren, denn während der Fütterungsperiode war die Stickstoffmenge geringer als während der Vorperiode.

## Versuch I. Hund II.

(Siehe Tabelle II auf Seite 230.)

Dieser Versuch, der eine Wiederholung des vorhergehenden ist, wird zu Vergleichszwecken mitgeteilt. Einige der wichtigeren mit der Brombenzolvergiftung einhergehenden Erscheinungen treten deutlicher hervor. Man beobachtet, daß das Verhältnis vom Harnstoffstickstoff zum Gesamtstickstoff während der Fütterungszeit etwas geringer als während der Vorperiode ist.

Die Ergebnisse mit der Fraktion des neutralen Schwefels stimmen vollständig mit denen von Goldmann überein. Während der Vorperiode betrug die Ausscheidung von neutralem Schwefel durchschnittlich 0,070 g, während auf der Höhe der Vergiftung 0,209 g ausgeschieden wurden, also fast dreimal so viel, als die normale Menge beträgt.

Die geringe Ausscheidung von Alkalisulfaten steht nicht recht mit dem hohen Gehalt an neutralem Schwefel im Einklange. Dies kommt von der schwankenden Ausscheidung der Äther-

**Versuch I, Hund II.**

**Tabelle II.**

| Gewicht | Volumen | Spez. Gewicht | Gesamt-N | Ammoniak-N | Harnstoff-N | Kreatinin-N | Phosphor | Chlor | Gesamt-S | Neutraler S | Gesamtsulfat-S | Alkalisulfat-S | Ätherschwefelsäuren-S | Gewicht der Faeces | N-Gehalt der Faeces | Fett der Faeces | Ausgeschiedener Gesamtstickstoff |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7400 | 274 | 1022 | 5,245 | 0,141 | 4,465 | 0,064 | 0,178 | 0,324 | 0,2997 | 0,063 | 0,237 | 0,2236 | 0,0134 | 22,0 | 0,642 | 0,965 | 5,88 |
| 7400 | 298 | 1025 | 5,358 | 0,253 | 4,776 | 0,057 | 0,146 | 0,458 | 0,3575 | 0,077 | 0,280 | 0,2656 | 0,0152 | 11,9 | 0,347 | 0,550 | 5,71 |
| 7300 | 209 | 1024 | 4,371 | 0,219 | 3,705 | — | 0,188 | 0,228 | 0,3025 | 0,066 | 0,236 | 0,2213 | 0,0143 | 10,2 | 0,283 | 0,325 | 4,65 |
| 7400 | 278 | 1030 | 6,105 | 0,217 | 5,235 | 0,039 | 0,192 | 0,668 | 0,3215 | 0,149 | 0,169 | 0,0990 | 0,0659 | 32,3 | 0,936 | 2,040 | 7,03 [2]) |
| 7600 | 212 | 1034 | 4,751 | 0,109 | 4,074 | — | 0,144 | 0,286 | 0,2940 | 0,175 | 0,119 | 0,0477 | 0,0715 | 15,3 | 0,402 | 1,190 | 5,15 [2]) |
| — | 264 | — | 5,541 | 0,205 | 4,589 | 0,048 | 0,167 | 0,382 | 0,3904 | 0,209 | 0,181 | 0,0486 | 0,1318 | 33,5 | 0,865 | 2,130 | 6,40 [2]) |
| 7380 | 218 | 1034 | 5,668 | 0,242 | 4,622 | 0,054 | 0,162 | 0,649 | 0,3245 | 0,195 | 0,091 | 0,0152 | 0,1143 | 17,0 | 0,414 | 1,190 | 6,08 [2]) |
| 7120 | 258 | 1026 | 4,850 | 0,194 | 3,965 | 0,057 | 0,192 | 0,420 | 0,3190 | 0,169 | 0,150 | 0,0059 | 0,1174 | 17,0 | 0,418 | 1,020 | 5,27 [2]) |
| 6960 | 223 | 1029 | 4,610 | 0,219 | 3,776 | 0,052 | 0,162 | 0,573 | 0,2337 | 0,137 | 0,097 | 0,0106 | 0,0867 | — | — | — | 4,61 [2]) |
| 7000 | 46 [1]) | 1026 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 8,3 | 0,217 | 0,575 | — |
| 7000 | 136 | 1026 | 2,481 | 0,132 | 1,959 | 0,055 | 0,110 | 0,630 | 0,1430 | 0,061 | 0,082 | 0,0699 | 0,0123 | 15,0 | 0,402 | 0,720 | 5,21 |
| 7200 | 144 | 1030 | 3,059 | 0,157 | 2,475 | 0,041 | 0,115 | 0,458 | 0,2145 | 0,062 | 0,150 | 0,1337 | 0,0156 | 10,0 | 0,273 | 0,350 | 3,33 |
| 7100 | 121 | 1032 | 4,624 | 0,654 | 2,025 | 0,039 | 0,082 | 0,630 | 0,1952 | 0,051 | 0,144 | 0,1315 | 0,0123 | 16,9 | 0,420 | 0,615 | 4,23 |

[1]) Der Harn ging verloren.

[2]) 2 Gramm Brombenzol pro Tag.

**Versuch II, Hund II.**

## Tabelle III A. Harnsäure- und Purinversuche.

| Gewicht | Volumen | Spezif. Gewicht | Gesamt-N | Ammoniak-N | Harnstoff-N | Reststickstoff | Harnsäure-N | Weiterer Purin-N | Kreatinin-N | Phosphor | Chlor | Trockene Faeces | N-Gehalt der Faeces | Fett der Faeces |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7020 | 152 | 1035 | 4,244 | 0,259 | 3,548 | 0,437 | 0,0026 | 0,0038 | 0,056 | 0,192 | 0,821 | 26,0 | 0,501 | 0,539 |
| 6920 | 137 | 1042 | 4,258 | 0,722 | 3,179 | 0,357 | 0,0026 | 0,0047 | — | 0,240 | 0,764 | 40,6 | 0,705 | 1,158 |
| 6840 | 173 | 1039 | 4,596 | 0,256 | 3,927 | 0,433 | 0,0029 | 0,0038 | 0,058 | 0,206 | 0,840 | 27,2 | 0,544 | 0,924 |
| 6760 | 173 | 1040 | 5,287 | 0,177 | 4,499 | 0,611 | 0,0026 | 0,0055 | 0,053 | 0,133 | 0,859 | 20,2 | 0,504 | 0,663[2] |
| 6760 | 155 | 1045 | 5,922 | 0,254 | 4,916 | 0,752 | 0,0035 | 0,0065 | 0,067 | 0,168 | 0,783 | 26,6 | 0,686 | 1,121[2] |
| 6820 | 148 | 1046 | 5,625 | 0,200 | 4,735 | 0,690 | 0,0071 | 0,0041 | 0,056 | 0,158 | 0,744 | 30,7 | 0,667 | 1,576[2] |
| 6900 | 148 | 1043 | 5,315 | 0,211 | 4,512 | 0,593 | 0,0062 | 0,0052 | 0,056 | 0,159 | 0,573 | 13,8 | 0,473 | 0,915[2] |
| 6880 | 176 | 1042 | 5,781 | 0,211 | 4,888 | 0,682 | 0,0060 | 0,0055 | 0,051 | 0,178 | 0,821 | 25,3 | 0,616 | 1,181[2] |
| 6880 | 184 | 1047 | 6,796 | 0,177 | 5,862 | 0,757 | 0,0071 | 0,0055 | 0,061 | 0,181 | 0,744 | 23,6 | 0,564 | 1,175[2] |
| 6880 | 214 | 1037 | 6,373 | 0,135 | 5,622 | 0,616 | 0,0048 | 0,0056 | 0,058 | 0,190 | 0,840 | 22,3 | 0,458 | 0,796[2] |
| 6640 | 148 | 1050 | 5,668 | 0,121 | 4,978 | 0,569 | 0,0040 | 0,0055 | 0,059 | 0,159 | — | 17,9 | 0,406 | 1,080[2] |
| 6660 | 165 | 1052 | 6,246 | 0,174 | 5,254 | 0,818 | 0,0048 | 0,0033 | 0,057 | 0,201 | 0,684 | 12,3 | 0,336 | 0,616[2] |
| 6720 | 168 | 1051 | 6,669 | 0,217 | 5,869 | 0,583 | 0,0054 | 0,0057 | 0,072 | 0,165 | 0,665 | 34,2 | 0,735 | 1,238[2] |
| 6680 | 165 | 1051 | 6,613 | 0,180 | 5,906 | 0,527 | 0,0043 | 0,0055 | 0,053 | 0,159 | 0,878 | 22,6 | 0,498 | 0,640[2] |
| 6680 | 163 | 1055 | 7,191 | 0,160 | 6,420 | 0,611 | 0,0065 | 0,0052 | 0,066 | 0,162 | 0,824 | 28,2 | 0,626 | 0,985[2] |
| 6680 | 150 | 1055 | 6,796 | 0,180 | 6,094 | 0,522 | 0,0095 | 0,0033 | 0,060 | 0,210 | 0,610 | 41,9 | 0,756 | 0,864 |
| 6680 | 155 | 1055 | 6,979 | 0,205 | 6,210 | 0,564 | 0,0035 | 0,0030 | 0,061 | 0,211 | 0,630 | 30,0 | 0,666 | 0,867 |
| 6680 | 140 | 1053 | 6,768 | 0,098 | 6,059 | 0,611 | 0,0029 | 0,0047 | 0,059 | 0,162 | 0,630 | 16,9 | 0,367 | 0,539 |
| 6680 | 128 | 1054 | 6,373 | 0,234 | 5,594 | 0,545 | 0,0043 | 0,0055 | 0,025 | 0,096 | 0,382 | 14,8 | 0,407 | 0,640 |
| {6780 | 70[1] | 1056 | 3,525 | 0,098 | 3,004 | 0,423 | 0,0029 | 0,0041 | 0,066 | 0,203 | 1,040 | — | — | — |
| {6820 | 208[1] | 1048 | 8,756 | 0,267 | 7,107 | 1,382 | 0,0029 | 0,0102 | 0,052 | 0,192 | 0,802 | 35,4 | 0,466 | 1,990 |
| Im Durchschnitt | | — | 6,14 | 0,182 | 5,050 | 0,571 | 0,0029 | 0,0710 | 0,054 | 0,182 | — | — | — | — |
| 6840 | 156 | 1050 | 6,387 | — | 5,613 | 0,571 | 0,0037 | 0,0058 | — | 0,193 | 0,573 | 30,3 | 0,584 | 0,876 |
| 6840 | 166 | 1051 | 7,332 | 0,245 | 6,327 | 0,762 | 0,0037 | — | — | — | — | 20,7 | 0,459 | 0,558 |
| 6840 | 152 | 1049 | 7,401 | 6,401 | 0,160 | 0,585 | — | — | — | — | — | 17,7 | 0,453 | 0,550 |

[1]) Versehentlich wurde etwas Harn im Käfig gelassen und erst am folgenden Tage gesammelt.
[2]) 2 Gramm Brombenzol pro Tag.

sulfate im Verlaufe der Vergiftung. Man wird finden, daß die Alkalisulfatausscheidung an einem Punkte den sehr niedrigen Stand von 0,010 g pro die gegen die durchschnittliche Höhe von 0,240 in der Vorperiode erreicht.

**Versuch II. Hund II.**

Tabelle III B. Verhältniszahlen.

| Ammoniak-N: Gesamt-N | Harnstoff-N: Gesamt-N | Harnsäure-N: Gesamt-N | Weiterer Purin-N: Gesamt-N | Kreatinin-N: Gesamt-N | Reststickstoff: Gesamt-N |
|---|---|---|---|---|---|
| 6,1 | 84 | 0,061 | 0,090 | 1,30 | 10,0 |
| 17,0 | 75 | 0,061 | 0,110 | — | 8,4 |
| 5,6 | 85 | 0,063 | 0,083 | 1,30 | 9,0 |
| 3,2 | 85 | 0,049 | 0,100 | 1,00 | 12,0 |
| 4,3 | 83 | 0,059 | 0,110 | 1,10 | 13,0 |
| 3,6 | 84 | 0,130 | 0,073 | 1,00 | 12,0 |
| 3,9 | 85 | 0,120 | 0,098 | 1,10 | 11,0 |
| 3,6 | 85 | 0,100 | 0,095 | 0,88 | 12,0 |
| 2,6 | 86 | 0,100 | 0,081 | 0,90 | 11,0 |
| 2,1 | 88 | 0,075 | 0,088 | 0,91 | 9,7 |
| 2,1 | 88 | 0,071 | 0,097 | 1,10 | 10,0 |
| 2,8 | 84 | 0,077 | 0,053 | 0,91 | 13,0 |
| 3,3 | 88 | 0,081 | 0.086 | 1,10 | 8,8 |
| 2,7 | 89 | 0,065 | 0,083 | 0,80 | 8,0 |
| 2,2 | 89 | 0,091 | 0,072 | 0,92 | 8,5 |
| 2,6 | 90 | 0,140 | 0,049 | 0,88 | 7,6 |
| 2,9 | 89 | 0,050 | 0,043 | 0,88 | 8,1 |
| 1,4 | 89 | 0,043 | 0,070 | 0,87 | 9,0 |
| 3,7 | 88 | 0,068 | 0,086 | 0,39 | 8,6 |
| 2,8 | 85 | 0,082 | 0,120 | 0,19 | 12,0 |
| 3,0 | 81 | 0,033 | 0,120 | 0,59 | 16,0 |
| 3,2 | 88 | 0,058 | 0,091 | — | 9,0 |
| 3,3 | 87 | 0,050 | — | — | 10,0 |
| 2,5 | 88 | — | — | — | 9,1 |

Dieser Versuch wurde aus zwei Gründen angestellt. Erstens hatten wir Interesse daran zu wissen, in welchem Grade die Purinausscheidung während der Intoxikation in Mitleidenschaft gezogen wurde, und zweitens schien es uns von Wert festzustellen,

wie lange die Wirkungen des Giftes andauern würden. Hinsichtlich des ersten Punktes ist bekannt, daß die Fähigkeit des Hundes, die im intermediären Stoffwechsel gebildete Harnsäure zu verbrennen, sehr groß ist, und kürzlich haben Levene und Sweet (23) in ihren Versuchen an Tieren mit Eckscher Fistel gezeigt, daß diese Tiere ihre Fähigkeit, Purinbasen zu zerstören, verlieren. Man könnte daher erwarten, daß bei einem Vorgange, der die Leber in Mitleidenschaft zieht, wie es Brombenzolvergiftung zweifellos tut, die Purinbestandteile des Harns betroffen würden.

Die Wirkung von Halogenbenzol auf den Organismus nach beendigter Verabfolgung ist schon von Goldmann untersucht worden, der die interessante Tatsache beobachtete, daß der Harn noch lange nach Darreichung des Präparates stark drehend war. Es wird nicht nötig sein, auf die Einzelheiten dieses Versuchs einzugehen, außer insofern wie sie weiteres Licht auf die Vergiftung werfen.

Dies ist der erste Versuch mit zuverlässiger Kreatininbestimmung, unter gleichzeitiger Berücksichtigung der ausgeschiedenen Reststickstoffmenge, wovon die Parabromphenylmercaptursäure einen Teil bildet.

### Kreatininstickstoff.

Während des ganzen Versuchs ist keine Wirkung auf die Ausscheidung dieser Substanz beobachtet worden, abgesehen von einer Neigung zum Steigen; aber die Wirkung ist nicht so scharf ausgesprochen, als daß man mit Gewißheit davon sprechen könnte. Wie man bei späteren Versuchen, bei stärkeren Eingriffen als diesen, sehen wird, ist die Wirkung der Brombenzolvergiftung mit sehr großen Veränderungen in der Stickstoffausscheidung ohne entsprechende Wirkung auf die Ausscheidung von Kreatinin verbunden.

### Harnsäure und andere Purinsubstanzen.

Diese wurden nach der Methode von Krüger und Schmidt (20) bestimmt und angesichts der gegen dieses Verfahren erhobenen Bedenken eine Reihe von Vorversuchen vor definitiver Annahme des Verfahrens angestellt. Es gab in unseren Händen befriedigende Resultate, obgleich es wahrscheinlich nicht so genau wie Ludwig Salkowskis Methode ist. In dem Grade, wie die Intoxikation

mit Brombenzol fortschreitet, beginnt ein bedeutendes Steigen in der Ausscheidung der Harnsäure wie auch der übrigen Purinsubstanzen. Die ausgeschiedenen Mengen waren zu keiner Zeit bedeutend, aber ein Vergleich an Hand der über Verlauf der Intoxikation aufgestellten Tabellen zeigt, daß Brombenzol eine deutliche Wirkung auf die Ausscheidung dieser Substanzen hat. Die Wirkung indessen bestand während der ganzen Nachperiode, als die Verabfolgung des Präparates längst aufgehört hatte.

### Reststickstoff.

Während der Vorperiode betrug die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Reststickstoffs ungefähr 0,35 g täglich, das Verhältnis zum Gesamtstickstoff 8,3%. Mit der Zufuhr von Brombenzol stieg die Menge am ersten Tage auf 0,91 g bei einer Gesamtstickstoffausscheidung von 5,3 g, gleich 17,2%. Diese Abnahme zeigt eine ganz entschiedene Beeinträchtigung der Desamidierungsfähigkeit bei dem Organismus.

Während der ganzen Fütterungsperiode war die Menge des ausgeschiedenen Reststickstoffs beinahe zweimal so groß wie während der Vorperiode. Während des ganzen Verlaufs des Experiments erhielt er den normalen Stand nicht wieder.

Was Goldmann über die Nachwirkungen von Brombenzol sagt, ist hier zweifellos richtig. Die Wirkungen des Präparates dauern noch lange nach der Verabreichung fort.

### *Serie II.*

### *Die Wirkung von Brombenzol auf das hungernde Tier.*

Tabelle IV A. Hungerversuch I.

| Total-N | Harnstoff-N | Ammoniak-N | Aminosäuren-N | Kreatinin-N | Gesamt-S | Gesamtsulfat-S | Alkalisulfat-S | Ätherschwefelsäuren-S | Neutraler S |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,076 | 1,857 | 0,120 | 0,072 | 0,107 | 0,136 | 0,1202 | 0,1094 | 0,0107 | 0,0156 |
| 2,2082 | 1,898 | 0,120 | 0,084 | 0,090 | 0,114 | 0,1928 | 0,0831 | 0,0096 | 0,0215 |
| 4,001[1]) | 2,766 | 0,130 | 0,453 | 0,085 | 0,226 | 0,1359 | 0,0659 | 0,0700 | 0,0990 |
| 4,056[1]) | 3,262 | 0,250 | 0,280 | 0,092 | 0,268 | 0,1134 | 0,0086 | 0,1048 | 0,1530 |
| 3,877[1]) | 2,971 | 0,290 | 0,330 | 0,094 | 0,274 | 0,1466 | 0,0106 | 0,1356 | 0,1280 |
| 3,190 | 2,543 | 0,170 | 0,314 | 0,105 | 0,144 | 0,0693 | 0,0004 | 0,0655 | 0,0748 |
| 2,969 | 2,546 | 0,110 | 0,186 | 0,107 | 0,108 | 0,0512 | 0,0002 | 0,0490 | 0,0568 |

[1]) 3 Gramm Brombenzol.

Tabelle IV B. Verhältniszahlen.

| Harnstoff-N: Gesamt-N | Ammoniak-N: Gesamt-N | Amino-säuren-N: Gesamt-N | Gesamt-S: Gesamt-N | Gesamt-Sulfat-S: Gesamt-N | Gesamt-Sulfat-S: Gesamt-S | Äther-sulfat-S: Gesamt-S | Neutraler S: Gesamt-S | Neutraler S: Gesamt-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 89,8 | 5,8 | 3,4 | 6,5 | 5,9 | 88,0 | 0,5 | 13,0 | 0,7 |
| 91,3 | 5,7 | 4,0 | 5,5 | 9,3 | 81,3 | 0,4 | 18,7 | 1,0 |
| 69,2[1]) | 3,2 | 11,2 | 5,7 | 3,4 | 60,3 | 1,7 | 43,8 | 2,4 |
| 80,6[1]) | 6,1 | 6,9 | 6,6 | 2,8 | 42,4 | 2,5 | 57,1 | 3,7 |
| 76,8[1]) | 7,6 | 8,5 | 7,1 | 3,7 | 53,5 | 3,5 | 46,7 | 3,3 |
| 79,7 | 5,3 | 9,8 | 4,5 | 2,1 | 48,1 | 2,0 | 51,9 | 2,3 |
| 85,9 | 3,7 | 6,3 | 3,6 | 1,7 | 47,4 | 1,6 | 56,9 | 2,2 |

[1]) 3 Gramm Brombenzol täglich.

Hier sind die Ergebnisse zweier Serien von Analysen wiedergegeben, die sich voneinander dadurch unterscheiden, daß der Tod des einen Tieres vorzeitig eintrat.

Für den Hungerzustand wird gewöhnlich angenommen, daß der ganze ausgeschiedene Stickstoff aus den Geweben des Tieres herrührt, endogen ist. Ganz ähnliche Vorgänge, die auftreten, wenn der Organismus mit Nahrung aber unter Bedingungen eines Hungerversuches versehen wird, sind in einer jüngst erschienenen Arbeit von Freund und seinen Mitarbeitern (12 und 13) beschrieben. Die Schwierigkeit, Prozesse, die in Wirklichkeit endogen sind, von solchen, die es nicht sind, zu trennen, ist augenscheinlich sehr groß. Freund hat gezeigt, daß eine große Menge Stickstoff, der im Hungerzustand eliminiert wurde, auf Rechnung der in den Darmkanal ausgeschiedenen Verdauungssäfte gesetzt werden kann, und daß die Eiweißstoffe, die jene enthalten, wie gewöhnliches Nahrungseiweiß umgesetzt werden.

Außerdem ist es bekannt, daß die Wirkung von gewissen Giften, wie von den Alkaloiden (31), sich ändert, je nachdem das Tier sich in einem Schwächezustand befindet oder durch Nahrung geschützt ist. Ob man den Kreislauf der Eiweißstoffe, wie ihn Freund annimmt, anerkennt oder nicht, muß man doch zugeben, daß das im Hungerzustande umgesetzte Eiweiß im Körper aufbewahrt wird und sich hierin von den gewöhnlichen Nahrungseiweißkörpern unterscheidet. Deshalb könnte man abweichende Resultate von denen erhalten, die man bei der Wirkung von Brombenzol bei Nahrungseiweißstoffen erzielt. Diese Tiere

ließen wir schon 8 Tage vor der Verabfolgung von Brombenzol hungern. An den beiden letzten Fasttagen wurde der Harn als Kontrolle für die folgenden Tage analysiert. An 3 Tagen wurden dann 3,0 g Brombenzol in Gelatinekapseln gegeben. Bei einem Tiere erfolgte hierauf am dritten Tage der Tod. Die Nachperiode wurde beim zweiten Tier noch 3 Tage fortgesetzt.

In diesen Versuchen wurde die Aminosäurefraktion direkt nach Pfaundlers Methode bestimmt. Der Harn wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt und eine Harnstoffbestimmung und eine Gesamtstickstoffbestimmung im Filtrate ausgeführt. Überdies wurde eine Harnstoffbestimmung in dem ursprünglichen Harn gemacht. Der Harnstoffstickstoff, der im Filtrate bestimmt war, wurde vom Gesamtstickstoff des Filtrats abgezogen und der Unterschied wurde der Aminosäurefraktion zuaddiert. Bei den Kontrollversuchen mit Parabromphenylmercaptursäure fanden wir, daß diese Substanz nicht mit Phosphorwolframsäure in der angewandten Konzentration gefällt wird.

## Gesamtstickstoff.

An den Tagen der Hungervorperiode war die Ausscheidung von Stickstoff praktisch konstant und belief sich auf 2,07—2,08 g in 24 Stunden.

Mit der Verabfolgung von Brombenzol stieg die Stickstoffausscheidung auf das Doppelte, und an den drei folgenden Tagen, an denen 3,0 g Gift täglich gegeben wurden, betrug die Ausscheidung demgemäß 4,00—4,05 und 3,97 g. Selbst an den beiden folgenden Tagen der Nachperiode war die Ausscheidung höher als während der Vorperiode. Man kann annehmen, daß die übermäßige Gewebszerstörung noch fortdauerte, als der Versuch aufgehört hatte.

## Harnstoffstickstoff.

Während der Vorperiode war der relative Wert für Harnstoff hoch, da 90% des Gesamtstickstoffs in dieser Form ausgeschieden wurden. Mit Beginn der Brombenzolvergiftung fiel der Harnstoffwert plötzlich, wie man sehen wird, zugunsten der Aminosäurenfraktion.

## Ammoniakstickstoff.

Selbst im Hungerstadium ist kein Anzeichen dafür vorhanden, daß sich eine Acidosis unter den Wirkungen des Brombenzols einstellt. Der Ammoniakstickstoff hat tatsächlich zugenommen, aber das Verhältnis von Ammoniakstickstoff zum Gesamtstickstoff erleidet eine geringe Änderung. Es besteht eine leichte Neigung für ein Anwachsen der Ammoniakstickstoffform am zweiten und am letzten Tage der Fütterungsperiode, aber die relativen Werte (6,2 und 7,5) fallen entschieden innerhalb der normalen Grenzen.

## Kreatininstickstoff.

Von sehr großem Interesse ist das Verhalten des Kreatinins im Verlaufe dieses Versuches. Unsere Kenntnis von der Kreatininausscheidung unter den Bedingungen der experimentellen Vergiftungen ist sehr beschränkt und die Haupterfahrungen stammen aus Untersuchungen über pathologische Zustände beim Menschen. Es scheint uns gerechtfertigt, viele mit dem Neubauerschen Verfahren gewonnene Ergebnisse zu vernachlässigen angesichts der großen Ungenauigkeiten bei dessen Ausführung (16).

Während der Vorperiode war die Kreatininausscheidung ziemlich konstant. Während der Vergiftungszeit, in der die Gesamtstickstoffausscheidung um 100% zunahm, wurde keine Veränderung in der Kreatininausscheidung beobachtet, tatsächlich war die Ausscheidung ein wenig geringer als während der Vorperiode.

Es ist hier nicht der Ort für theoretische Erörterungen über diesen interessanten Gegenstand, aber da wir ihn streifen, mag das Folgende gesagt werden: Bei Intoxikationen des Menschen, bei solchen, die durch Typhus und Lungenentzündung hervorgerufen werden, nimmt die Stickstoffausscheidung deutlich zu, und der eine von uns (21) hat dabei eine deutliche Steigerung der ausgeschiedenen Kreatininmenge auf der Höhe der Fieberperiode beobachtet. Während der Rekonvaleszenz fällt die Kreatininausscheidung plötzlich und bleibt für einige Zeit unter dem normalen Stand. Diese Tatsache ist auch von Leathes (22) in seiner Arbeit über Fieber infolge Vaccinebakterien beobachtet worden. Man nimmt an, daß diese Vermehrung des Kreatinins unter den oben erwähnten Bedingungen von einer Steigerung

des endogenen Stoffwechsels herrührt, oder mit anderen Worten, bei den Infektionsprozessen findet eine übernormale Gewebezerstörung der wichtigsten Art statt.

Andererseits ist in diesem Versuch kein Anzeichen einer solchen Erscheinung beobachtet. Während eine bedeutende Gewebezerstörung statthat, oder mindestens eine sehr große Stickstoffausscheidung, ist diese nicht von einer entsprechenden Steigerung der Kreatininmenge begleitet. Wir sind deshalb geneigt, dieser Intoxikation einen weniger ernsten Charakter als der durch Bakterientoxine beizumessen. Unglücklicherweise haben wir zu der Zeit, als diese Versuche ausgeführt wurden, dem Kreatinin nicht die Wichtigkeit beigemessen, die wir ihm jetzt als Faktor im pathologischen Harn zulegen. Deshalb wurden auch keine Kreatininbestimmungen vorgenommen.

### Aminosäurenstickstoff.

Was wir schon betreffs der Harnstoff- und Ammoniakausscheidung bemerkt haben, betrifft in weitem Maße auch die Ausscheidung von Aminosäuren. Die Zunahme an diesem Anteil beträgt an einem Punkte über 600% über dem normalen Gehalt. Infolgedessen ist das Verhältnis von Aminosäurestickstoff zum Gesamtstickstoff während der Intoxikation dreimal größer als während der Vorperiode. Hierin also gleichen die Vorgänge gänzlich der Cystinurie.

### Schwefelausscheidung.

Man könnte erwarten, daß mit der starken Steigerung der Stickstoffausscheidung die Schwefelausscheidung in demselben Grade zunimmt. Während das Verhältnis von Schwefel zu Stickstoff 5,5—6,5% in der Vorperiode beträgt, verändert sich der Wert nach Verabfolgung des Giftes kaum. Es scheint, daß das Eiweiß, welches infolge der Intoxikation übermäßig umgesetzt wird, im wesentlichen dasselbe ist, welches während des Hungerstadiums aufgebraucht wird. Andererseits verändert sich das Verhältnis bedeutend, direkt nachdem die Giftzufuhr unterbrochen wird. Der Prozentsatz ist jetzt niedriger, da er nur 61% von dem vorhergehenden Wert beträgt. Wir glauben, daß dies damit übereinstimmt, was einer von uns in

einer früheren Mitteilung in dieser Zeitschrift beobachtet hat. Nach lange fortgesetztem Schwefel- und Stickstoffhunger und darauffolgender Verabfolgung einer beträchtlichen Menge Eiweiß zeigte der Organismus ein offenbar größeres Bemühen, den Schwefel als den Stickstoff zurückzuhalten. In diesem Falle hat man also auch mit einer bedeutenden Stickstoff- und Schwefelausscheidung zu rechnen, und das Bestreben, beide wieder anzusetzen, ist von einer größeren Schwefel- als Stickstoffretention begleitet.

### Gesamtschwefelsäure-Schwefel.

Dieser Teil des Schwefels macht eine sehr bedeutende relative Veränderung durch. Während der Vorperiode wurden 80—89% Schwefel in dieser Form ausgeschieden. Am folgenden Tage nach der Zuerteilung der ersten Dosis Brombenzol war das Verhältnis auf 42% des Gesamtschwefels gefallen.

Nun erhebt sich die folgende Frage: Kommt diese relative Abnahme der Gesamtsulfate von einem Mangel an oxydativer Fähigkeit, der durch die Intoxikation hervorgebracht ist?

Wir glauben, daß wir im Augenblick hierauf keine befriedigende Antwort geben können. Bis in die neueste Zeit war man gewohnt, viele von den Veränderungen, die in pathologischen Harnen auftraten, einem verminderten Oxydationsvermögen zuzuschreiben, ohne einen direkten experimentellen Beweis hierfür zu haben.

Neuere Forscher neigen weniger zu dieser Ansicht, denn es hat sich in einer Anzahl Fällen, auf welche diese Theorie angewendet worden war, gezeigt, daß die experimentellen Ergebnisse nicht mit den Tatsachen übereinstimmten.

Deshalb befürworten wir nicht die Annahme, daß die verminderte Sulfatbildung in diesem Falle von einer allgemein verringerten Oxydationsfähigkeit herrührt.

Es kann wohl sein, daß in engbegrenzten Fällen, wie Cystinurie oder Brombenzolvergiftung, die Oxydation tatsächlich abnehmen kann, aber nur hinsichtlich der betreffenden Schwefelgruppe.

Daß der Organismus in andern Richtungen im Besitz seiner vollen Oxydationsfähigkeit ist, zeigt sich in der Art und Weise, in der der Benzolring in Phenol umgewandelt wird. Im Hinblick

auf diese Frage haben wir zahlreiche einfache Respirationsversuche vorgenommen, um feststellen zu können, ob der respiratorische Quotient sich unter dem Einflusse des Giftes veränderte. Dies wird in dem letzten Teile der Arbeit ausgeführt werden.

Es ist von Interesse, an dieser Stelle das Verhältnis des Gesamtschwefelsäure-Schwefels zum Harnstickstoff zu ermitteln.

Man glaubt, daß diese beiden Bestandteile in gewisser Beziehung denselben Ursprung haben. Dies ist in der klinischen Literatur mehrfach ausgesprochen werden. Hiermit ist nicht gemeint, daß die Vorgänge, die zu ihrer Bildung führen, dieselben sind, sondern daß diese Prozesse sozusagen Hand in Hand gehen. Daß sie in gewissem Grade ähnlich sind, zeigt der normale Stoffwechsel. Dort steigt und fällt der Harnstoffwert bei Nahrungsveränderungen gleichzeitig mit dem Sulfatschwefel.

Bei Brombenzolvergiftung besteht anscheinend dieselbe Wirkung, aber nur äußerlich, denn während der Gesamtschwefelsäureschwefel auf 50% des normalen Wertes gefallen ist, ist der Harnstoff nur um 80% gesunken. Es ist also augenscheinlich, daß außer allein in qualitativer Hinsicht keine Beziehung zwischen diesen Prozessen besteht.

## Alkalisulfat-Schwefel.

Die Herabsetzung dieses Teiles des Schwefelstoffwechsels ist in diesem Versuch markanter als in irgend einem der vorhergehenden. Das Verhältnis, welches am Anfang des Versuchs 80% der Gesamtschwefelausscheidung beträgt, nimmt ab, bis es fast ganz geschwunden ist; denn es werden nur 0,39% des Gesamtschwefels als Alkalisulfate am letzten Tage der Fütterungsperiode ausgeschieden. Diese Abnahme dauert während des ersten Tages der Nachperiode noch an, an dem 0,28% des Gesamtschwefels als Alkalisulfate ausgeschieden wurden.

## Ätherschwefelsäuren-Schwefel.

Diese Form des Schwefels bedarf keiner weiteren Besprechung. Die oxydative Fähigkeit des Organismus reicht aus, wie man sehen wird, um die Ätherschwefelsäuremenge dreizehnmal über den ursprünglichen Wert zu erheben.

### Neutraler Schwefel.

Bei der bedeutenden Herabminderung der Gesamtsulfate ist ein demgemäßes Steigen dieses Anteils im Schwefelstoffwechsel selbstverständlich. Während der Vorperiode betrug die ausgeschiedene Menge ungefähr 0,020 g täglich. Das Verhältnis stieg mit der Verabfolgung von Brombenzol auf 0,15 g, ganz ohne Beziehung zur Zunahme der Gesamtstickstoffausscheidung.

Wenn man das Verhältnis vom Reststickstoff zum neutralen Schwefel betrachtet, bemerkt man eine sehr interessante Veränderung in ihren Beziehungen zueinander. Während der Vorperiode wurden ungefähr 25% des Gewichts des Aminosäurestickstoffs in der Form von neutralem Schwefel ausgeschieden. Während der Intoxikation stieg der Wert plötzlich auf 54%. Der normale Zustand war sofort wieder hergestellt, sobald man mit dem Mittel aufhörte. Die Formel für Parabromphenylmercaptursäure ist $C_{11}H_{12}BrSNO_3$, entsprechend einem Gehalt von 10,0% Schwefel und 4,4% Stickstoff.

Wenn die Zunahme des Aminosäurestickstoffs teilweise von der Ausscheidung der Schwefelsäure herrührte, würde eine entsprechend größere Zunahme in der Menge des neutralen Schwefels vorhanden sein, als es jetzt der Fall ist.

Die Tatsache, daß die Ausscheidung von Reststickstoff bei seinem niedrigsten Stande doppelt so hoch wie die des neutralen Schwefels ist, beweist, daß die Zunahme nicht ganz von der Säure herrührt, wogegen bei einem Zusammenhang mit der Säure das Gegenteil der Fall wäre.

Auf jeden Fall muß man annehmen, daß andere Stickstoff enthaltende, aber schwefelfreie Substanzen bei der großen Zunahme von Aminosäurestickstoff unter dem Einfluß von Brombenzol mitbetroffen sind.

Daß Abderhalden und Schittenhelm in einem Fall von Cystinurie (1) Leucin und Tyrosin fanden, mag hierfür von Belang sein. Es ist möglich, daß noch andere Säuren mit der großen Veränderung, die das Brombenzol im Stoffwechsel hervorruft, zusammenhängen. Wir haben noch keine Versuche zur Beantwortung dieser Frage gemacht, die sich indessen lohnen würden.

Das zweite Experiment mit Brombenzol fand durch den Tod des Tieres seinen Abschluß.

**Tabelle V A. Hungerversuch 2.**

| Gesamtstickstoff | Ammoniakstickstoff | Harnstoff- und Ammoniakstickstoff | Harnstoffstickstoff | Kreatininstickstoff | Kreatinstickstoff | Gesamtschwefel | Gesamtsulfat-Schwefel | Neutraler Schwefel | Alkalisulfat-Schwefel | Ätherschwefelsäure-Schwefel |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1,50 | 0,060 | 1,20 | 1,14 | 0,030 | 0,025 | 0,106 | 0,062 | 0,044 | 0,058 | 0,004 |
| 1,88 | 0,080 | 1,60 | 1,52 | 0,045 | 0,015 | 0,137 | 0,088 | 0,049 | 0,077 | 0,011 |
| 3,02 [1] | 0,155 | 2,77 | 2,62 | 0,050 | — | 0,248 | 0,106 | 0,142 | 0,047 | 0,059 |
| 2,73 [1] | 0,400 | 2,31 | 1,91 | 0,055 | — | 0,164 | 0,037 | 0,127 | 0,017 | 0,020 |
| 3,00 [1] | 0,540 | 2,35 | 1,81 | 0,040 | 0,007 | 0,272 | 0,077 | 0,195 | 0,062 | 0,015 |
| Tot | | | | | | | | | | |

[1]) 3 Gramm Brombenzol täglich.

**Tabelle V B. Verhältniszahlen.**

| Ammoniakstickstoff: Gesamtstickstoff | Ammoniak- und Harnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff | Harnstoffstickstoff: Gesamtstickstoff | Kreatininstickstoff: Gesamtstickstoff | Kreatinstickstoff: Gesamtstickstoff | Gesamtschwefel: Gesamtstickstoff | Gesamtsulfat-Schwefel: Gesamtstickstoff | Neutraler Schwefel: Gesamtstickstoff | Alkalisulfat-Schwefel: Gesamtstickstoff | Ätherschwefelsäure-Schwefel: Gesamtstickstoff | Gesamtsulfat-Schwefel: Gesamtschwefel | Neutraler Schwefel: Gesamtschwefel | Alkalisulfat-Schwefel: Gesamtschwefel | Ätherschwefelsäure-Schwefel: Gesamtschwefel |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4,0 | 80 | 76 | 2,0 | 1,6 | 7,1 | 4,1 | 2,9 | 3,9 | 0,2 | 59 | 42 | 55 | 0,4 |
| 4,2 | 85 | 81 | 2,4 | 0,8 | 7,3 | 4,7 | 2,6 | 4,1 | 0,6 | 64 | 36 | 56 | 0,8 |
| 5,1 [1]) | 92 | 87 | 1,7 | 0,0 | 8,2 | 3,5 | 4,7 | 1,6 | 1,9 | 43 | 57 | 19 | 24,0 |
| 14,6 [1]) | 88 | 70 | 2,0 | 0,0 | 6,0 | 1,4 | 5,0 | 0,6 | 0,7 | 23 | 84 | 10 | 12,0 |
| 18,0 [1]) | 76 | 60 | 1,3 | 0,2 | 9,0 | 2,5 | 6,5 | 2,0 | 0,5 | 28 | 72 | 23 | 5,0 |

[1]) 3 Gramm Brombenzol täglich.

Die Ausscheidungen und Beziehungen werden nicht im einzelnen besprochen werden, es sei denn, um die Punkte hervorzuheben, in denen dieser Versuch sich von dem vorigen unterscheidet.

Einer der größten Gegensätze, welche dieses Tier im Vergleich zum ersten Versuche bot, lag in dem Verhalten des Ammoniakstickstoffes. Bei dem vorhergehenden Versuch gab sich keine Acidosis weder durch die absoluten noch durch die relativen Werte für die Ammoniakausscheidung zu erkennen.

In diesem Falle begann die Acidosis am ersten Tage der Fütterungsperiode und dauerte bis zum Tode des Tieres. Am letzten Tage wurden 18% des Gesamtstickstoffes in der Form von Ammoniak ausgeschieden. Sowohl Kreatin wie Kreatinin wurden

bei diesem Versuch bestimmt, und abgesehen vom Allantoin, das in großer Menge bei hungernden Hunden (36) ausgeschieden wird, kann der zurückbleibende Stickstoff als Reststickstoff angesehen werden. Der Reststickstoff dieses Versuches entspricht ungefähr dem Aminosäurestickstoff des vorhergehenden. Die Übersichtstabelle zeigt indessen, daß während der Intoxikation relativ weniger Reststickstoff als während der Vorperiode vorhanden ist. Dasselbe ist der Fall mit Ausnahme des letzten Tages, an welchem 20,5% des Stickstoffes als Reststickstoff ausgeschieden wurden. Gleichzeitig hatte der absolute Wert für neutralen Schwefel dieselbe Höhe wie beim vorhergehenden Versuche erreicht. Wir haben hier eine Menge von neutralen Schwefel, die 60% des Reststickstoffes bildet. Es scheint, daß die Ausscheidung von Mercaptursäure in diesem Falle ausgesprochener als in dem letzten war, und daß sie wahrscheinlich auch teilweise in Verbindung mit Ammoniak ausgeschieden wurde.

Es muß ferner hervorgehoben werden, daß die Gesamtschwefelsäureausscheidung in diesem Experiment einen niedrigeren Stand als bei allen andern erreicht. Am Todestage wurden nur 28,0% des Gesamtschwefels in dieser Form ausgeschieden.

### *Serie III.*

### *Die Ausscheidung von Aminosäuren unter dem Einflusse von Brombenzol.*

Wir haben schon auf den Unterschied in den Ergebnissen hingewiesen, die Löwy und Neuberg einerseits und Alsberg und Folin andererseits über das Verhalten eines Cystinuriekranken gegen Aminosäuren erhielten. Der Zweck des folgenden Versuchs war, wenn möglich, einiges Licht über diese Verschiedenheit zu verbreiten.

Der Plan des Versuches war folgender: Ein Hund wurde mit der den Tieren während des ersten Teils der Arbeit gegebenen Standarddiät so gut wie möglich ins Stickstoffgleichgewicht gebracht.

Während einer Kontrollperiode wurden die Aminosäuren Alanin, Tyrosin und Cystin verabfolgt.

Das Tier wurde unter den Einfluß von Brombenzol gesetzt und bekam dieselben Säuren; außerdem bekam es am Tage vor

## Tabelle VI A. Aminosäureversuche.

| Tag | Gesamt-N | Ammoniak-N | Harnstoff- u. Ammoniak-N | Harnstoff-N | Kreatinin-N | Kreatin-N | Reststickstoff | Gesamt-schwefel | Gesamt-sulfat-S | Alkali-sulfat-S | Neutraler S | Ätherschwefelsäure-S | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 4,80 | 0,305 | 4.28 | 3,98 | 0,055 | 0,020 | 0,45 | 0,270 | 0,206 | 0,192 | 0,064 | 0,014 | Vorperiode |
| II | 4,50 | 0,225 | 4,03 | 3,81 | 0.055 | 0,010 | 0,41 | 0,275 | 0,220 | 0,200 | 0,055 | 0,020 | „ |
| III | 5,59 | 0.290 | 5.05 | 4,75 | 0,055 | 0,010 | 0,48 | 0,273 | 0,218 | 0,205 | 0.055 | 0,013 | 2 g Alanin = 0,32 g N |
| IV | 5,37 | 0.305 | 4.85 | 4,55 | 0,055 | 0,020 | 0,45 | 0,306 | 0,236 | 0,218 | 0,070 | 0,018 | 2 g „ = 0,32 g N |
| V | 5,10 | 0.285 | 4,63 | 4,35 | 0.055 | 0,055 | 0,36 | 0,323 | 0,253 | 0,231 | 0,070 | 0,022 | Ruhepause |
| VI | 5.30 | 0,340 | 4.79 | 4,45 | 0,055 | 0,085 | 0,48 | 0.269 | 0,209 | 0,196 | 0.060 | 0,013 | „ |
| VII | 5,14 | 0,360 | 4.60 | 4,24 | 0.055 | 0.040 | 0,45 | 0,250 | 0,188 | 0,168 | 0,062 | 0,020 | 2 g Tyrosin = 0,15 g N |
| VIII | 5,10 | 0.400 | 4.55 | 4,15 | 0.055 | 0,050 | 0,45 | 0,241 | 0,182 | 0,160 | 0,059 | 0,022 | 2 g „ = 0,15 g N |
| IX | 4,83 | 0,385 | 4.33 | 3,94 | 0.055 | 0,070 | 0,38 | 0,301 | 0,211 | 0,181 | 0,090 | 0,030 | Ruhepause |
| X | 5,35 | 0,325 | 4.80 | 4,48 | 0.055 | 0,060 | 0,44 | 0,328 | 0,242 | 0,219 | 0,086 | 0,023 | „ |
| XI | 5,60 | 0.340 | 5.14 | 4.80 | 0,055 | 0,185 | 0.22 | 0,622 | 0,530 | 0,520 | 0,092 | 0,010 | 2 g Cystin = 0,232 g N und 0,53 g S |
| XII | 5,87 | 0,605 | 5.30 | 4,70 | 0.070 | 0,150 | 0,35 | 0,830 | 0,660 | 0,642 | 0,170 | 0,018 | 2 g „ = 0,232 g N „ 0,53 g S |
| XIII | 5,43 | 0.595 | 4,95 | 4.36 | 0,065 | 0,130 | 0,29 | 0,421 | 0,295 | 0,282 | 0,126 | 0,013 | Ruhepause |
| XIV | 5,27 | 0,440 | 4,84 | 4,40 | 0,065 | 0.125 | 0,24 | 0.256 | 0.200 | 0,188 | 0,056 | 0,012 | „ |
| XV | 5,52 | 0,320 | 5.05 | 4.73 | 0.055 | 0,140 | 0.28 | 0.316 | 0,245 | 0,235 | 0,071 | 0,010 | „ |
| XVI | 5,60 | 0,360 | 5,08 | 4,72 | 0.060 | 0,130 | 0.33 | 0,295 | 0,168 | 0,131 | 0,127 | 0,037 | 0,5 g Brombenzol |
| XVII | 4,55 | 0,365 | 4.13 | 3,77 | 0.060 | 0,085 | 0,28 | 0,259 | 0,128 | 0,078 | 0,131 | 0,050 | 0,5 g „ + 2 g Alanin |
| XVIII | 4.90 | 0,375 | 4,35 | 3.98 | 0.060 | 0,060 | 0,43 | 0,246 | 0,104 | 0,060 | 0,142 | 0,044 | 0,5 g „ |
| XIX | 5,39 | 0,480 | 4.80 | 4.32 | 0,060 | 0,135 | 0,40 | 0,295 | 0,153 | 0,099 | 0,142 | 0,054 | 0,5 g „ + 2 g Tyrosin |
| XX | 5,40 | 0.365 | 4,75 | 4,39 | 0,065 | 0,140 | 0,45 | 0,324 | 0,182 | 0,132 | 0,142 | 0,050 | 0,5 g „ |
| XXI | 5,80 | 0.395 | 4,95 | 4,56 | 0.065 | 0,145 | 0,64 | 0,584 | 0,418 | 0.374 | 0,166 | 0,044 | 0,5 g „ + 2 g Cystin |
| XXII | 5,62 | 0.380 | 5.08 | 4,70 | 0,065 | 0,145 | 0,33 | 0,419 | 0,257 | 0,207 | 0,162 | 0,050 | 0,5 g „ |
| XXIII | 5,37 | 0,305 | 4,90 | 4,60 | 0.055 | 0,185 | 0,23 | 0,388 | 0,188 | 0,170 | 0,200 | 0,018 | 0,5 g „ + 1 g p-Bromphenylmercaptursäure |
| XXIV | 5,48 | 0,400 | 4,85 | 4,45 | 0,060 | 0,160 | 0,41 | 0,350 | 0,178 | 0,139 | 0,172 | 0,039 | 0,5 g „ |
| XXV | 4,95 | 0,315 | 4,48 | 4,17 | 0,060 | 0,115 | 0,30 | 0,302 | 0,138 | 0,088 | 0,064 | 0,050 | 0,5 g „ |

Tabelle VI B. Aminosäurenversuche. Verhältniszahlen.

| Ammoniak-N: Gesamt-N | Ammoniak- und Harnstoff-N: Gesamt-N | Harnstoff-N: Gesamt-N | Kreatinin-N: Gesamt-N | Kreatin-N: Gesamt-N | Gesamt-S: Gesamt-N | Gesamtsulfat-S: Gesamt-N | Alkalisufat-S: Gesamt-N | Neutraler S: Gesamt-N | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamt-N | Ammoniak-N Harnstoff-N | Kreatinin-N: Harnstoff-N | Kreatin-N: Harnstoff-N | Gesamt-S: Harnstoff-N | Gesamtsulfat-S: Harnstoff-N | Alkalisulfat-S: Harnstoff-N | Neutraler S: Harnstoff-N | Ätherschwefelsäuren-S: Harnstoff-N | Gesamtsufat-S: Gesamt-S | Alkalisulfat-S: Gesamt-S | Neutraler-S: Gesamt-S | Ätherschwefelsäure-S: Gesamt-S |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6,3 | 89 | 83 | 1,1 | 0,4 | 5,6 | 4,3 | 4,0 | 1,3 | 0,27 | 7,6 | 1,4 | 0,5 | 6,8 | 5,2 | 4,8 | 1,6 | 0,34 | 76 | 71 | 24 | 5,2 |
| 5,0 | 90 | 85 | 1,2 | 0,2 | 6,1 | 4,9 | 4,4 | 1,2 | 0,44 | 5,9 | 1,4 | 0,3 | 7,2 | 5,8 | 5,2 | 1,4 | 0,52 | 80 | 73 | 20 | 7,3 |
| 5,2 | 90 | 85 | 1,0 | 0,2 | 4,9 | 3,9 | 3,7 | 1,0 | 0,23 | 6,1 | 1,2 | 0,2 | 5,7 | 4,5 | 4,3 | 1,2 | 0,27 | 80 | 75 | 20 | 4,7 |
| 5,7 | 90 | 85 | 1,0 | 0,2 | 5,7 | 4,4 | 4,1 | 1,3 | 0,34 | 6,7 | 1,2 | 0,4 | 6,7 | 5,2 | 4,8 | 1,5 | 0,40 | 77 | 71 | 23 | 5,9 |
| 5,6 | 91 | 85 | 1,1 | 1,1 | 6,3 | 4,9 | 4,5 | 1,4 | 0,43 | 6,5 | 1,3 | 1,3 | 7,4 | 5,8 | 5,3 | 1,6 | 0,50 | 79 | 72 | 21 | 6,8 |
| 6,4 | 90 | 84 | 1,0 | 1,6 | 5,1 | 4,0 | 3,7 | 1,1 | 0,25 | 7,6 | 1,2 | 1,9 | 6,0 | 4,7 | 4,4 | 1,3 | 0,29 | 78 | 73 | 22 | 4,8 |
| 7,0 | 89 | 82 | 1,1 | 0,8 | 4,9 | 3,7 | 3,3 | 1,2 | 0,39 | 8,5 | 1,3 | 0,9 | 5,9 | 4,4 | 4,0 | 1,5 | 0,47 | 75 | 67 | 25 | 8,0 |
| 7,8 | 89 | 81 | 1,1 | 1,0 | 4,7 | 3,6 | 3,1 | 1,1 | 0,43 | 9,6 | 1,3 | 1,2 | 5,8 | 4,4 | 4,8 | 1,4 | 0,53 | 75 | 66 | 25 | 9,1 |
| 7,8 | 90 | 81 | 1,1 | 1,4 | 6,3 | 4,4 | 3,8 | 1,9 | 0,62 | 9,6 | 1,4 | 1,8 | 7,6 | 5,3 | 4,6 | 2,3 | 0,76 | 70 | 60 | 30 | 10,0 |
| 6,0 | 90 | 84 | 1,0 | 1,1 | 6,1 | 4,5 | 4,1 | 1,6 | 0,43 | 7,1 | 1,2 | 1,3 | 7,3 | 5,4 | 4,9 | 1,9 | 0,51 | 74 | 67 | 26 | 7,0 |
| 6,1 | 92 | 86 | 1,0 | 3,3 | 11,0 | 9,4 | 9,2 | 1,6 | 0,18 | 7,1 | 1,1 | 3,9 | 13,0 | 11,0 | 10,8 | 1,9 | 0,21 | 85 | 83 | 15 | 1,6 |
| 10,2 | 90 | 80 | 1,2 | 2,5 | 14,1 | 11,2 | 10,9 | 2,9 | 0,31 | 12,8 | 1,5 | 3,2 | 17,6 | 14,0 | 13,7 | 3,6 | 0,38 | 79 | 77 | 21 | 2,2 |
| 10,8 | 91 | 80 | 1,2 | 2,4 | 7,7 | 5,4 | 5,2 | 2,3 | 0,24 | 13,5 | 1,5 | 3,0 | 9,7 | 6,8 | 6,4 | 2,9 | 0,30 | 70 | 67 | 30 | 3,1 |
| 8,4 | 92 | 84 | 1,2 | 2,4 | 4,9 | 3,8 | 3,6 | 1,1 | 0,23 | 10,0 | 1,5 | 2,8 | 5,8 | 4,5 | 4,3 | 1,3 | 0,27 | 78 | 73 | 22 | 4,7 |
| 5,8 | 91 | 85 | 1,0 | 2,5 | 5,7 | 4,4 | 4,2 | 1,3 | 0,18 | 6,8 | 1,2 | 3,0 | 6,7 | 5,2 | 5,0 | 1,5 | 0,21 | 77 | 74 | 23 | 3,2 |
| 6,4 | 91 | 84 | 1,1 | 2,3 | 5,3 | 3,0 | 2,4 | 2,3 | 0,61 | 7,6 | 1,3 | 2,7 | 6,2 | 3,5 | 2,8 | 2,7 | 0,78 | 57 | 44 | 43 | 13,0 |
| 7,9 | 91 | 83 | 1,3 | 1,9 | 5,7 | 2,8 | 1,7 | 2,9 | 1,10 | 9,5 | 1,6 | 2,3 | 6,9 | 3,4 | 2,1 | 3,5 | 1,30 | 49 | 30 | 51 | 19,3 |
| 7,5 | 89 | 81 | 1,2 | 1,2 | 5,0 | 2,1 | 1,2 | 2,9 | 0,90 | 9,3 | 1,5 | 1,5 | 6,2 | 2,6 | 1,5 | 3,6 | 1,10 | 42 | 24 | 58 | 17,8 |
| 8,9 | 89 | 80 | 1,1 | 2,5 | 5,4 | 2,8 | 1,8 | 2,6 | 1,00 | 11,1 | 1,4 | 3,1 | 6,8 | 3,5 | 2,3 | 3,3 | 1,25 | 52 | 34 | 48 | 18,3 |
| 6,7 | 88 | 81 | 1,2 | 2,6 | 6,0 | 3,4 | 2,5 | 2,6 | 0,93 | 8,2 | 1,5 | 3,2 | 7,3 | 4,1 | 3,0 | 3,2 | 1,14 | 56 | 41 | 44 | 15,4 |
| 6,7 | 85 | 79 | 1,1 | 2,5 | 10,1 | 7,2 | 6,4 | 2,9 | 0,76 | 8,5 | 1,4 | 3,2 | 13,8 | 9,2 | 8,2 | 3,6 | 0,96 | 71 | 64 | 29 | 7,5 |
| 6,7 | 90 | 84 | 1,2 | 2,6 | 7,5 | 4,6 | 3,7 | 2,9 | 0,89 | 8,1 | 1,4 | 3,1 | 9,0 | 5,5 | 4,4 | 3,5 | 1,06 | 61 | 49 | 39 | 12,0 |
| 5,6 | 91 | 86 | 1,0 | 3,4 | 7,2 | 3,5 | 3,2 | 3,7 | 0,34 | 6,5 | 1,2 | 4,0 | 8,4 | 4,1 | 3,7 | 4,4 | 0,39 | 49 | 44 | 51 | 4,6 |
| 7,3 | 89 | 81 | 1,1 | 2,9 | 6,4 | 3,2 | 2,5 | 3,2 | 0,71 | 9,0 | 1,3 | 3,6 | 7,9 | 4,0 | 3,1 | 3,9 | 0,87 | 51 | 40 | 49 | 11,2 |
| 6,3 | 90 | 84 | 1,2 | 2,3 | 6,1 | 2,8 | 1,8 | 3,3 | 1,01 | 7,5 | 1,4 | 2,7 | 7,2 | 3,3 | 2,1 | 3,9 | 1,20 | 46 | 29 | 54 | 17,0 |

der Beendigung des Versuches Parabromphenylmercaptursäure. Die gegebenen Dosen waren folgende: Am zweiten Tage des Versuches wurden 2,0 g Alanin mit einem Stickstoffgehalt von 0,32 g gegeben. Der Stoffwechsel des Tieres wurde drei Tage lang beobachtet. An den beiden folgenden Tagen wurden 2,0 g Tyrosin[1]), das 0,15 g Stickstoff enthielt, gegeben, dann folgte eine Ruheperiode von zwei Tagen. An den beiden folgenden Tagen wurden 2,0 g Haarcystin täglich verabfolgt. Diese Cystinmenge enthielt 0,23 g Stickstoff und 0,53 g Schwefel. Dann folgte wieder eine Ruhepause von drei Tagen.

Während des weiteren Verlaufs des Versuches erhielt das Tier täglich 0,5 ccm Brombenzol in Gelatinekapseln. Diese Menge ist gleich 0,75 g Brombenzol und ist fähig, 1,5 g Säure zu bilden.

Unter dem Einfluß des Brombenzols wurden dieselben Aminosäuren in der gleichen Reihenfolge wie während der Kontrollperiode gegeben. Außerdem wurde 1 g Mercaptursäure verabfolgt. Um den Versuch möglichst wenig zu gefährden und um ihn möglichst schnell zu Ende zu führen, wurde die Ruheperiode zwischen der Verabfolgung der einzelnen Aminosäuren so kurz wie angängig bemessen. Deshalb wurde die Ruheperiode auf einen einzigen Tag abgekürzt.

Da wir die analytischen Ergebnisse und die Beziehungen im einzelnen angeben, kann eine Besprechung unterbleiben bis auf das Schicksal der Aminosäuren beim normalen Tiere und bei einem unter dem Einfluß von Brombenzol stehenden. Reiß, (30) Blum (9), Wohlgemuth (38) und viele andere haben das Schicksal von Alanin, Tyrosin und Cystin und Aminosäuren im allgemeinen eingehend untersucht. Es zeigte sich, daß diese Säuren bei Gabe per os quantitativ verbrannt wurden, und daß der Stickstoff als Harnstoff erschien. Über Cystin scheinen Meinungsverschiedenheiten zu bestehen.

Im Jahre 1885 gab Goldmann einem Hunde 2,02 g Cystin und fand, daß nicht aller Schwefel zu Schwefelsäure oxydiert wurde, sondern daß 34% als neutraler Schwefel ausgeschieden wurden. Dieser Versuch ist seitdem zu einem andern Zwecke von Blum wiederholt worden, der fand, daß Cystin, das durch den

---

[1]) Das Tyrosin wurde aus Hornspähnen hergestellt. Sein optisches Drehungsvermögen war nicht geprüft. Eine Stickstoffbestimmung ergab für Tyrosin stimmende Werte.

Mund gegeben wurde, ganz und gar zu Schwefelsäure oxydiert wurde. Dies ist selbst beim mit Phosphor vergifteten Hunde so, wo man erwarten könnte, daß ein Teil des Schwefels in der nicht oxydierten Form ausgeschieden würde. Rothera hat einem Menschen Cystin gegeben und fand, daß es quantitativ als Schwefelsäure ausgeschieden wurde.

Die Fraktionen, die direkt mit der vorliegenden Frage in Zusammenhang stehen, sind der Reststickstoff und der neutrale Schwefel. Diese sollen zuerst besprochen werden.

## Reststickstoff.

Während der ganzen Zeit der Brombenzolvergiftung ist der Reststickstoff nicht höher als während der beiden letzten Tage der Kontrollperiode. Zu dieser Zeit wurden durchschnittlich 0,43 g Reststickstoff ausgeschieden. Mit der Gabe von 2 g Cystin unter dem Einfluß von Brombenzol stieg am 21. Tage des Versuchs der Reststickstoff entschieden, dieses glich sich jedoch am 22. Tage wieder aus, als eine ähnliche Menge Cystin gegeben wurde und eine Abnahme in dieser Form des Stickstoffs zu beobachten war. An den beiden Tagen betrug die Menge des unbestimmten Stickstoffs durchschnittlich 0,45 g täglich, was der Menge ungefähr entsprach, die bei ähnlicher Cystinfütterung in der Vorperiode ausgeschieden wurde. Es muß angenommen werden, daß unter dem Einfluß von Brombenzol der Stickstoff des per os genommenen Cystins quantitativ in irgend einer andern Form als Aminosäuren ausgeschieden wird.

## Neutraler Schwefel.

Diese Form wird nur so weit besprochen werden, wie sie für das Schicksal des Cystins beim normalen Tier und unter dem Einfluß von Brombenzol in Betracht kommt.

Durch die Verabfolgung von Cystin in der brombenzolfreien Periode war der neutrale Schwefel etwas niedriger als an dem vorhergehenden Tage. Dieses Ergebnis bestätigt daher alle andern Beobachtungen über das Schicksal des Cystins beim normalen Tier.

Nicht alles Cystin trägt indessen zu einer Zunahme des Gesamtschwefels bei, und es ist mehr als wahrscheinlich, daß eine gewisse Menge durch den Darmkanal hindurchging und nicht absorbiert wurde. Die Ätherschwefelsäuren zeigen auch

eine Zunahme. Durch die Gabe von 0,5 ccm Brombenzol stieg die neutrale Schwefelmenge etwa aufs Dreifache der in der normalen Zeit beobachteten Menge. Während der Periode, in welcher Alanin und Tyrosin mit Brombenzol gegeben waren, schwankt die neutrale Schwefelmenge von 0,037—0,054 g. Mit der Verabfolgung von Cystin fällt der Wert sofort, und nach der von p-Bromphenylmercaptursäure ist die neutrale Schwefelmenge durchschnittlich niedriger als einige Zeit während der Brombenzolperiode.

Sowohl die Stickstoff- wie die Schwefelwerte sprechen nicht dafür, daß die Tiere unter dem Einfluß von Brombenzol weniger die Fähigkeit besitzen, den Stickstoff und Schwefel des Cystins und der Parabromphenylmercaptursäure in Harnstoff bzw. Sulfate umzuwandeln.

### *Serie IV.*

### *Die zeitlichen Verhältnisse der Stickstoff- und Schwefelausscheidung unter dem Einflusse von Brombenzol.*

Wenig Material ist, soviel wir wissen, bezüglich dieses Punktes vorhanden. Die bisherigen Versuche über zeitliche Beziehungen waren entweder darauf gerichtet, die Schnelligkeit des Umsatzes verschiedener Arten von Eiweißstoffen zu bestimmen, für sich oder unter dem Einflusse von hinzugefügter Nahrung, wie Kohlehydrate und Fett, oder die Versuche gingen dahin, Fragen zu lösen, die den Mechanismus des Abbaues und der Resorption der einzelnen Eiweißstoffe betreffen.

Hierher gehören die Versuche von Falta (9) und Hamäläionen und Helme (17). Einige Versuche sind auch über die Zeitbeziehungen von Schwefel und Phosphor im Vergleich zu Kohlenstoff und Stickstoff ausgeführt worden. Dies sind Versuche, die uns direkter betreffen. Die Resultate dieser Forschungen ergaben, daß nicht alle Endprodukte der Verdauung gleichzeitig ausgeschieden wurden. Über die individuelle Art der Stickstoffverteilung ist wenig gearbeitet worden, außer in den neueren Arbeiten über Kreatinin- (22) und Harnsäureausscheidung (22 und 34). Dasselbe kann man vom Schwefel sagen, und es sind wenig Versuche angestellt worden, um die individuelle Art der Verteilung von Schwefel nach der Verdauung von Eiweiß

zu verfolgen. Die schwedischen Forscher haben die individuelle Verteilung der einzelnen Schwefelformen verfolgt und fanden, daß das Steigen der Schwefelausscheidung nach der Verabfolgung eines bestimmten Proteins nicht gleichzeitig für die verschiedenen Formen eintritt.

Gemäß dem stufenweisen Abbau der Proteine könnte man eine entsprechende Wirkung auf den Harn erwarten, besonders wenn die Analysen vollständig genug wären. Dies sollte in größerem Maße bei einer so ausgesprochenen Veränderung im Stoffwechsel der Fall sein, wie sie durch die Brombenzolvergiftung hervorgerufen wird. Es erscheint uns nicht als unwahrscheinlich, daß diese unbekannten Stickstoff, aber keinen Schwefel enthaltenden Substanzen, die wir schon in einem früheren Teil dieser Arbeit erwähnt haben und welche die Ausscheidung von Mercaptursäure begleiten, deutlicher hervortreten würden, wenn der Stoffwechsel in kurzen Zwischenräumen verfolgt würde. Es wäre auch möglich, die Wirkung von Fleisch auf die frühe Loslösung der schwefelhaltigen Gruppen zu beobachten, die Hamäläienen und Helme schon beschrieben haben.

Um diese Frage aufzuklären, ließ man einen sehr großen Hund[1]) 8 Tage lang hungern.

Wir nahmen eine Kontrollperiode von 4 Stunden und dann begann der Versuch. Der Hund wurde während 44 Stunden genau alle 4 Stunden katheterisiert, was zehn Vierstundenperioden ergab. Während der Zeit zwischen der ersten und der sechsten Periode erhielt der Hund keine Nahrung. In der ersten Vierstundenperiode bekam er 10 g Brombenzol und in der zweiten und vierten 3,0 g. Auf diese Weise waren wir imstande, die sofortigen Wirkungen des Brombenzols zu verfolgen und den Hund außerdem sehr vollständig unter dem Einfluß des Gifteszu erhalten.

In der fünften Periode wurden 480 g mageres Fleisch verabfolgt, das 15,5 g Stickstoff und 0,51 g Schwefel enthielt, und außerdem 10,0 g Brombenzol. Diese Giftmenge wurde als ausreichend angesehen, um die im Fleisch enthaltene Schwefelmenge zu finden.

In der achten Periode wurden noch 3,0 g Brombenzol hinzugefügt.

---

[1]) Dieser Hund wog ungefähr 35—40 kg; wir konnten ihn nicht wiegen.

Wir konnten diesen Versuch erfolgreich zu Ende führen, mit Ausnahme einer einzigen Periode, in welcher der in einen Stoffwechselkäfig gelassene Harn mit Faeces verunreinigt wurde.

Da wir so sparsam wie möglich mit dem Harn umgehen mußten, wurde Ammoniak nicht bestimmt. Der Harnstoff wurde im Filtrate der Phosphorwolframsäurefällung nach Folins Methode ermittelt. Der Unterschied zwischen dem Harnstoffwert und der Gesamtstickstoffzahl des Filtrats ist auf die Aminosäuren zurückzuführen. Außerdem wurden Kreatin und Kreatinin bestimmt.

Tabelle VII A. Zeitversuche.

| Periode | Gesamt-N | Harnstoff-N | Aminosäuren-N | Kreatinin-N | Kreatin-N | Gesamt-S | Gesamtsulfat-S | Neutraler-S | Alkalisulfat-S | Ätherschwefelsäuren-S |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,726 | 0,3057 | 0,1241 | 0,030 | 0,001 | 0,043 | 0,0298 | 0,013 | 0,0230 | 9,0068 |
| 1 | 1,925 [1]) | 0,9400 | 0,0825 | 0,061 | 0,016 | 0,145 | 0,0918 | 0,063 | 0,0481 | 0,0437 |
| 2 | 1.425 | 1,1250 | 0,1237 | 0,036 | 0,015 | 0,144 | 0,0848 | 0,069 | 0,0178 | 0,0670 |
| 3 | 1,529 [2]) | 1,2190 | 0,1054 | 0,050 | 0,015 | 0,159 | 0,0762 | 0,083 | 0,0045 | 0,0717 |
| 4 | — [3]) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | 1,712 | 1,3100 | 0,1237 | 0,046 | 0,009 | 0,161 | 0,0708 | 0,090 | — | 0,0720 |
| 6 | 3,003 [4]) | 2,4430 | 0,4340 | 0,063 | 0,075 | 0,188 | 0,0882 | 0,100 | 0,0018 | 0 0864 |
| 7 | 3,800 | 2,7500 | 0,3800 | 0,063 | 0,015 | 0,164 | 0,0718 | 0,092 | 0,0091 | 0,0627 |
| 8 | 3,780 [4]) | 3,0300 | 0,2100 | 0,052 | 0,022 | 0,159 | 0,0603 | 0,099 | 0,0048 | 0,0555 |
| 9 | 3,241 | 2,6460 | 0,2600 | 0,052 | 0,021 | 0,172 | 0,0609 | 0.111 | 0,0061 | 0,0548 |
| 10 | 2,260 | 1,7020 | 0,3000 | 0,044 | 0,003 | 0,120 | 0,0447 | 0,075 | — | 0,0482 |

[1]) 10 g Brombenzol.
[2]) Urin durch Faeces verunreinigt.
[3]) 10 g Brombenzol und 450 g Fleisch.
[4]) 3 g Brombenzol.

## Gesamtstickstoff.

Der einfache Hungerwert für eine Vierstundenperiode betrug 0,726 g. Mit der Verabfolgung von 10 g Brombenzol stieg die Ausscheidung innerhalb der 4 Stunden auf 1,232 g, 160% über den normalen Wert. Die Ausscheidung nimmt noch immer zu, bis am Ende der fünften Periode mehr als das Doppelte der normalen Stickstoffmenge ausgeschieden wird. Nach der Gabe

Tabelle VII B. Zeitversuche. Verhältniszahlen.

| Periode | Harnstoff-N: Gesamt-N | Aminosäuren-N: Gesamt-N | Kreatinin-N: Gesamt-N | Kreatin-N: Gesamt-N | Gesamt-S: Gesamt-N | Gesamtsulfat-S: Gesamt-N | Neutraler S: Gesamt-N | Alkalisulfat-S: Gesamt-N | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamt-N | Aminosäuren-N: Harnstoff-N | Gesamt-S: Harnstoff-N | Gesamtsulfat-S: Harnstoff-N | Neutraler S: Harnstoff-N | Alkalisulfat-S: Harnstoff-N | Ätherschwefelsäuren-S: Harnstoff-N | Kreatinin-N: Harnstoff-N | Kreatin-N: Harnstoff-N | Gesamtsulfat-S: Gesamt-S | Neutraler S: Gesamt-S | Alkalisulfat-S: Gesamt-S | Ätherschwefelsäuren-S: Gesamt-S | Neutraler S: Aminosäuren-N | Neutraler S: Gesamtsulfat-S | Ätherschwefelsäure-S: Gesamtsulfat-S | Neutraler S: Kreatinin-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 56 | 3,2 | 4,2 | 0,2 | 5,9 | 4,1 | 1,8 | 3,2 | 0,9 | 5,7 | 11,0 | 7,4 | 3,2 | 5,7 | 4,7 | 7,5 | 0,4 | 69 | 30 | 54 | 16 | 56 | 44 | 23 | 43 |
| 1 | 76 | 6,7 | 5,0 | 1,3 | 11,9 | 7,5 | 4,4 | 3,9 | 3,6 | 8,7 | 15,0 | 9,7 | 5,7 | 5,1 | 6,7 | 6,5 | 1,7 | 63 | 37 | 33 | 30 | 65 | 59 | 48 | 88 |
| 2 | 79 | 8,7 | 3,9 | 1,1 | 10,0 | 5,9 | 4,1 | 1,2 | 4,7 | 11,0 | 13,0 | 7,5 | 5,3 | 1,6 | 6,0 | 5,0 | 1,4 | 59 | 41 | 12 | 47 | 48 | 70 | 79 | 110 |
| 3 | 80 | 6,9 | 3,3 | 1,0 | 10,4 | 5,0 | 5,4 | 0,3 | 4,7 | 8,6 | 13,0 | 6,3 | 6,8 | 0,4 | 5,9 | 4,1 | 1,2 | 48 | 52 | 0,5 | 45 | 79 | 110 | 94 | 160 |
| 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | 77 | 7,2 | 2,7 | 0,5 | 9,4 | 4,1 | 5,3 | 0,0 | 4,2 | 9,5 | 12,0 | 5,4 | 6,9 | 0,0 | 5,5 | 3,5 | 0,7 | 44 | 56 | 0,0 | 45 | 73 | 130 | 100 | 200 |
| 6 | 81 | 14,0 | 2,1 | 2,5 | 6,3 | 2,9 | 3,4 | 0,1 | 2,9 | 18,0 | 7,4 | 3,6 | 4,1 | 0,1 | 3,5 | 2,6 | 3,1 | 47 | 53 | 1,0 | 46 | 23 | 110 | 98 | 160 |
| 7 | 72 | 10,0 | 1,4 | 0,4 | 4,3 | 1,9 | 2,4 | 0,2 | 1,7 | 14,0 | 6,0 | 2,6 | 3,3 | 0,3 | 2,3 | 1,9 | 0,6 | 44 | 56 | 5,6 | 38 | 24 | 130 | 87 | 170 |
| 8 | 80 | 5,5 | 1,4 | 0,6 | 4,2 | 1,6 | 2,6 | 0,1 | 1,5 | 6,9 | 5,2 | 2,0 | 3,3 | 0,2 | 1,8 | 1,7 | 0,7 | 38 | 62 | 0,3 | 34 | 47 | 160 | 92 | 190 |
| 9 | 81 | 8,0 | 1,6 | 0,6 | 5,3 | 1,9 | 3,4 | 0,2 | 1,7 | 9,9 | 6,5 | 2,3 | 4,2 | 0,2 | 2,1 | 2,0 | 0,8 | 35 | 65 | 0,3 | 32 | 43 | 180 | 90 | 210 |
| 10 | 75 | 13,0 | 1,9 | 0,1 | 5,3 | 2,0 | 3,3 | 0,0 | 2,1 | 18,0 | 7,1 | 2,6 | 4,4 | 0,0 | 2,8 | 2,6 | 0,2 | 37 | 63 | 0,0 | 40 | 25 | 170 | 100 | 170 |

von 15,0 g Stickstoff in Form von Fleisch und von 10,0 g Brombenzol innerhalb der 4 Stunden wurden 1,3 g Stickstoff über dem Hungerwert ausgeschieden. Von dieser Zeit an stieg die Stickstoffausscheidung, bis am Ende der zehnten Periode ein leichtes Fallen beobachtet wurde. In dem Versuch war die Ausscheidung in jeder Periode weit über dem Brombenzolhungerwert.

Wenn man den höchsten Wert nimmt, den man in einer Brombenzolhungerperiode erhielt, 1,7 g, so wurden während der fünf Perioden gemäß den 15,5 g Fleischstickstoff 16,08 $(1{,}71 \times 5) = 7{,}53$ g Fleischstickstoff ausgeschieden. Man kann also sagen, daß, wenn man 20 Stunden lang die Fleischfütterung fortsetzen würde, 48% dieses Stickstoffes im Harne erscheinen. Es ist nicht ganz befriedigend, die Ausscheidung auf diese Weise zu berechnen, denn man hat keine Methode zur Ermittlung, in welchem Maße die Gewebe unter dem Einflusse der überreichlich verabfolgten Menge Gift zerstört werden.

## Harnstoffstickstoff.

Wir neigen zu der Ansicht, daß die erste Harnstoffanalyse unrichtig ist. Wir haben niemals einen ähnlich niedrigen Gehalt in irgend einer unserer Analysen des Hundeharnes beobachtet, und die kleine uns zur Verfügung stehende Harnmenge erlaubte uns keine Wiederholung der Analyse.

Während der folgenden Perioden zeigte das Verhältnis von Harnstoffstickstoff zum Gesamtstickstoff eine leichte Neigung zu steigen, da es beinahe 80% des Gesamtstickstoffs betrug. Mit der Zulage von Nahrungseiweiß wird eine deutliche Abweichung von der Norm ersichtlich. Die Abnahme ist nicht in den ersten 4 Stunden zu beobachten, aber zeigt sich in der folgenden Periode ganz deutlich.

Wenn man die Werte nimmt, die einer von uns mit Österberg (28) für eine ähnliche Stickstoffmenge bei einem Hunde im Stickstoffhungerstadium erhalten hat, ist das Verhältnis von Harnstoffstickstoff zum Gesamtstickstoff 85%.

Wir haben es hier mit einer ausgesprochenen Unfähigkeit des Organismus zur Desamidierung während der ersten 8 Stunden der Fleischperiode zu tun. Demzufolge steigt das Harnstoff-

verhältnis bis zur letzten Periode; als 50% des Nahrungseiweißstickstoffs ausgeschieden waren, fiel das Verhältnis auf 75%.

### Aminosäurestickstoff.

Betreffs der Ausscheidung von Mercaptursäure kann man hier einige direkte Aufschlüsse bekommen.

Von 0,023 g, was man als normalen Wert für eine vierstündige Hungerperiode ansehen kann, steigt der Wert während der ersten 4 Stunden auf fast viermal so viel und bleibt auf dieser Höhe, bis die Fleischperiode kommt. Selbst mit der doppelten Gesamtstickstoffausscheidung ist das Verhältnis fast zweimal so groß als während der normalen Hungerperiode. Mit der Zufuhr von Fleisch und Brombenzol hat die absolute Ausscheidung dieser Stickstofform um etwas weniger als ums Doppelte zugenommen. Die Ausscheidung von Aminosäuren erreicht während der ersten Periode den höchsten Stand und fällt während der folgenden Periode.

Die Veränderung in den Beziehungen zum Gesamtstickstoff ist sehr auffallend. Während in der normalen Hungerperiode der Aminosäurestickstoff nur 3,2% vom Gesamtstickstoff bildete, nahm das Verhältnis während der Brombenzolhungerperiode um das Doppelte zu.

Mehr hervorzuheben ist indessen die Schwierigkeit, welcher die Desamidierung des Nahrungseiweißes unter dem Einfluß von großen Brombenzolmengen im Organismus begegnet.

Während der sechsten Periode wurden 14% Stickstoff in dieser Form ausgeschieden. Wenn man Vertrauen in diese Analyse setzen kann, muß man annehmen, daß kein Ammoniak zu dieser Zeit ausgeschieden wurde. Die Ungewißheit, die allen quantitativen Fällungen mittels Phosphorwolframsäure jedoch unserer Ansicht nach anhaftet, läßt bei uns Zweifel an der Zuverlässigkeit der Analyse entstehen. Die Analyse der folgenden Periode zeigt indessen, daß das Verhältnis der Aminosäuren während dieses Teils des Versuches ein hohes war. In der achten und neunten Periode fiel das Verhältnis, um während der letzten Periode wieder zu steigen.

### Kreatininstickstoff.

Obgleich über die zeitlichen Verhältnisse der Ausscheidung dieser Substanz von Leathes (22) sowie Österberg und Wolf (23)

ein ziemliches Material gesammelt ist, sind dies, soviel wir wissen, die ersten Bestimmungen, die an Tieren gemacht wurden. Obgleich an pathologischen Harnen ausgeführt, sind sie von gewissem Interesse, da sie zeigen, daß selbst bei Versuchen, die in kurze Zwischenräumen angestellt sind, die Wirkung des Eiweißes auf die Ausscheidung von Kreatinin im Harn ganz gering ist.

Mit der Verabfolgung von Brombenzol nahm die Kreatininausscheidung während der ersten Periode deutlich zu, und darnach war ihr Stand trotz erheblicher Schwankungen im ganzen höher als während der vier Kontrollstunden. Dies steht, wie wir sehen werden, im ganzen nicht mit den Ergebnissen im Einklange, die wir in den vorhergehenden Experimenten erhalten haben. Wir sind indessen geneigt, diesen Versuch wegen des sehr scharfen Intoxikationscharakters gewissermaßen in eine andere Klasse einzureihen. Es scheint uns, daß wir in diesem Falle unter Bedingungen arbeiten, in denen viele wichtige Gewebe zerstört wurden und infolgedessen der endogene Stoffwechsel stark in Mitleidenschaft gezogen ist. Aus diesem Grunde ist die Kreatininausscheidung größer als normal; diese Tatsache erfährt zudem eine gewisse Bestätigung in den nach der Vergiftung auftretenden Erscheinungen. Das Tier befand sich anscheinend etliche Tage wohl, obgleich es nicht so lebhaft wie vor dem Versuche war. Am Ende dieser Zeit fand man das Tier tot in seinem Käfig, und die Sektion, sowie der miskroskopische Befund zeigten, in welchem Maße das Gift auf das Tier gewirkt hatte.

Andererseits hatte die Zugabe einer großen Menge Fleisch und die Ausscheidung der doppelten Menge Stickstoff im Harn auf die Ausscheidung von Kreatinin keinen Einfluß. Die Menge ist in der Tat größer als in der vorhergehenden Periode, andererseits ist der Wert nicht bemerkenswert höher als in der ersten Brombenzolhungerperiode. Wir nehmen an, daß der Überschuß an Kreatinin, der in diesem Versuch beobachtet wurde, aus dem endogenen Gewebeeiweiß stammt, das unter dem Einfluß von großen Mengen Brombenzol im Übermaße zersetzt worden ist.

## Kreatinstickstoff.

Die Ausscheidung des Kreatins zeigt ein ganz anderes Bild als die des Kreatinins. Der Einfluß des Giftes auf seine Aus-

scheidung ist viel ausgeprägter als beim Kreatinin. Bei der Zufuhr von Brombenzol vermehrt sich die Ausscheidung auf das Zehnfache der Menge im Hungerstadium der Vorperiode. Auch hierin haben wir, wie wir glauben, ein wichtiges Anzeichen für die Schwere der Intoxikation. In einer Arbeit, die einer von uns mit Alexander Lambert (21) über den Stickstoff- und Schwefelstoffwechsel bei Lungenentzündung ausgeführt hat, ist ein weiterer Beweis für diesen Punkt geliefert. Der Einfluß der Fleischnahrung auf die Ausscheidung des Kreatins war merklich, da 0,075 g während der vier der Nahrungszufuhr folgenden Stunden ausgeschieden wurden.

### Gesamtschwefel.

Bei der Vergiftung nahm die Schwefelausscheidung im Vergleich zu der des Gesamtstickstoffs sehr zu. Dieser Fall stellt eine Erscheinung dar, die der von Goldmann bei seinen Versuchen mit Chlorbenzol beobachteten gleicht. Er schrieb einen Teil des Vorganges der Ausfuhr des Schwefels aus dem Organismus zu.

Bei der Verabfolgung von 480 g Fleisch und hinreichend Brombenzol, um den verabreichten Schwefel zu binden, ist keine ähnliche Wirkung bei der Eiweißnahrung beobachtet worden.

In der Menge des ausgeschiedenen Gesamtschwefels ist eine leichte Zunahme zu beobachten, aber sie ist in keiner Weise der vermehrten Stickstoffausscheidung zu vergleichen. Aus diesem Grunde fällt das Verhältnis des Gesamtschwefels zum Gesamtstickstoff von dem sehr hohen Werte von 11,0% während der Hungerperiode auf 4,2% während der Fleischperiode. Dieselbe Tendenz zur Retention, die sich bei normalen Tieren nach dem Hungerzustand und in anderen Versuchen dieser Arbeiten geltend machte, ist auch hier beobachtet worden.

### Gesamtschwefelsäure-Schwefel.

Während der Hungerperiode nahm der Gesamtsulfatschwefel mit dem gesteigerten Eiweißzerfall zu, indessen nicht im entsprechenden Verhältnis. Als eine Folge davon nimmt das Verhältnis von Gesamtschwefelsäure zum Gesamtschwefel ab. Während es 69,0% im Verlaufe des Hungerstadiums beträgt, nimmt es bei der

siebenten Periode ab, aber nur 44% Schwefel werden in dieser Form ausgeschieden.

Bemerkenswerter ist indessen, daß während der Gabe von Nahrungsschwefel das Verhältnis noch bis zur neunten Periode abnimmt, aber 35% Schwefel werden in der Form von Sulfaten ausgeschieden.

Wenn man das Verhalten von normalen Hunden unter ähnlichen Bedingungen zum Vergleiche heranzieht, sieht man sofort die großen Störungen, die das Brombenzol hervorgebracht hat. Man hat es offenbar mit einem großen Unvermögen, Cystinschwefel zu Sulfaten zu oxydieren, zu tun.

## Schwefelsäure und Ätherschwefelsäuren.

Diese sollen zusammen betrachtet werden. Die ausgesprochene Wirkung auf die Alkalisulfate ist erst in der zweiten Periode der Brombenzolverabfolgung ersichtlich. Die Fraktion der Alkalisulfate nimmt bis zur fünften Periode ab; es konnten analytisch keine schwefelsauren Salze nachgewiesen werden. Gleichzeitig hatte die Ätherschwefelsäure vollständig den oxydierten Schwefel ersetzt. Nach der Zulage von Eiweißschwefel war eine verhältnismäßig geringe Zunahme in der Alkalisulfatmenge bemerkbar, und selbst diese verschwand am Ende der zehnten Periode vollständig.

Die Ätherschwefelsäuren wurden nicht durch den Eiweißschwefel der Nahrung beeinflußt.

Wenn wir die Ergebnisse der Brombenzolwirkung bezüglich des zeitlichen Verlaufes der Stickstoff- und Schwefelausscheidung zusammenfassen, können wir folgendes schließen:

1. Das Gift ist innerhalb 4 Stunden, sicherlich aber innerhalb 8 Stunden nach seiner Darreichung in voller Wirksamkeit. Zu dieser Zeit kann man die ganze Wirkung beobachten. Die Anomalien in der Verteilung des Stickstoffs können früher als solche des Schwefels beobachtet werden, obgleich nur eine kurze Zeitdifferenz allem Anscheine nach zwischen ihnen besteht.

2. Bei der Zufuhr von Eiweiß an ein hungerndes, unter dem Einflusse von Brombenzol befindliches Tier bleibt die Neigung zur Schwefelretention bestehen, obgleich für wenigstens 12 Stunden die Stickstoffausscheidung nicht den Hungerstadiumswert erreicht hat.

### *Der respiratorische Quotient bei Brombenzolvergiftung.*

Dreizehn Versuche sind über den respiratorischen Quotienten bei Brombenzolvergiftung gemacht worden. Zur Verwendung kam ein einfacher Apparat. Die Tiere wurden in einen Glaszylinder eingeschlossen, der die Bewegung soviel wie möglich hinderte. Luft, die vorher von Feuchtigkeit und Kohlendioxyd befreit war, wurde unter bestimmtem Druck hereingelassen. Das ausgeschiedene Wasser wurde durch Schwefelsäure und das Kohlendioxyd durch Natronkalk absorbiert. Die Respirationskammer war leicht genug, daß das Tier vor und nach dem Versuch mit der Kammer gewogen werden konnte.

Die meisten Experimente wurden an Tieren gemacht, die mit „Schiffszwieback" gefüttert waren, so daß ein genügender Vorrat an Glycogen vorhanden war. Es wird unnötig sein, die Versuche im einzelnen wiederzugeben. In einem Experiment, wo die Kontrollanalysen einen R.-Q. von 0,80 ergaben, wurden 2,4 ccm einer dreiprozentigen Brombenzolemulsion in Gummi arabicum unter die Haut gespritzt. Fünf Stunden später ergab ein zweistündiger Respirationsversuch einen R.-Q. von 0,78.

In einem andern Versuch war der R.-Q. vor der Injektion 0,79, nach der Einspritzung von 3,6 ccm derselben Brombenzolemulsion stieg der R.-Q. auf 0,91. In diesem Falle wies das Tier deutliche Zeichen von Atmungsbeschwerden auf. Das Tier wurde am folgenden Tage, wo der R.-Q. 0,92 betrug, wieder geprüft. Es ist klar, daß aus diesen Versuchen keine festen Schlüsse gezogen werden können, außer daß der respiratorische Quotient unter gewissen Bedingungen durch das Gift nicht beeinflußt wird.

### *Zusammenfassung der Resultate.*

1. Der Einfluß von Brombenzol auf das ernährte Tier.

Bei einem Tier, das genügend Eiweiß, Fett und Kohlehydraten erhält und das sich im Stickstoffgleichgewicht befindet, verursacht Brombenzol eine bedeutende Zunahme der ausgeschiedenen Stickstoffmenge. Das Verhältnis der verschiedenen Stickstoffformen zueinander ist nicht merklich verändert. Der Prozentsatz, den der Harnstoffstickstoff von dem ausgeschiedenen Gesamtstickstoff ausmacht, ist kleiner geworden, aber nicht in dem Maße, wie es bei der Cystinurie der Fall ist.

Das Ammoniakverhältnis hat, außer in speziellen Fällen, ebenfalls nicht zugenommen. Die Kreatininmenge wächst nicht im Verhältnis zum Gesamtstickstoff. Auf der anderen Seite ist eine deutliche Zunahme der Kreatinabgabe zu beobachten, zumal praktisch bei normalen Tieren kein Kreatin ausgeschieden wird. Der Einfluß des Giftes auf die Ausscheidung der Harnsäure und Purinbasen ist gleichfalls deutlich, und in Anbetracht einer neueren Mitteilung sind wir geneigt, diese ausgesprochene Zunahme einer Störung der Leberfunktion zuzuschreiben. Diese Annahme wird auch durch die mikroskopische Prüfung dieses Organs gestützt. Der Reststickstoff hat sowohl relativ wie absolut zugenommen.

Während schon die Stickstoffverteilung erhebliche Veränderungen aufweist, erfährt die Schwefelverteilung noch auffallendere Änderungen. Die Gesamtschwefelausscheidung hat zugenommen, aber nicht in dem Maße, daß sie die Annahme einer völligen Ausschwemmung des Schwefels aus dem Körper zuläßt. Die Schwefel- und Stickstoffausscheidungen gehen fast parallel. Die Gesamtschwefelsäureausscheidung hat relativ abgenommen und entspricht in dieser Hinsicht den Befunden bei der Cystinurie. Fast der ganze oxydierte Schwefel wird in der Form von Ätherschwefelsäuren ausgeschieden, die gebildeten Sulfate dienen zur Entgiftung der Phenole, die durch die intermediäre Oxydation des Benzolringes gebildet werden. Die Zunahme in der Ausscheidung des neutralen Schwefels ist sowohl relativ wie absolut. Die relative Steigerung dieser Schwefelform wird nur durch die relative Zunahme der Ätherschwefelsäuren übertroffen.

### 2. Die Wirkung von Brombenzol auf das hungernde Tier.

Die Gesamtstickstoffausscheidung verdoppelt sich am ersten Tage der Brombenzolverabfolgung. Bei dem Tiere, das die Vergiftung überlebte, bestanden keine Anzeichen einer Acidosis; aber bei dem Tiere, das erlag, nahm das Ammoniak absolut wie relativ zu. Die relative Harnstoffausscheidung war merklich bei entsprechender Steigerung des Stickstoffgehaltes in der Aminosäurenfraktion vermindert. Bei diesen Tieren hat man ein deutlich verringertes Desamidierungsvermögen anzunehmen, das nicht so ausgeprägt bei den ernährten Tieren zu beobachten ist. Die Gesamtschwefelausscheidung ging fast gänzlich der Stickstoffausscheidung parallel. Es wurde keine übermäßige Ausfuhr von

Schwefel gegenüber dem Stickstoff beobachtet. Bei dem hungernden Tiere hat man einen Zustand, der mehr als beim gefütterten Tiere der Cystinurie ähnelt.

### 3. Die Ausscheidung von Aminosäuren unter dem Einflusse von Brombenzol.

Für das normale Tier wurden frühere Beobachtungen über das Verhalten von Aminosäuren bestätigt. Unter dem Einflusse von Brombenzol wurden sowohl schwefelfreie als schwefelhaltige Aminosäuren wie beim normalen Tiere verwertet.

### 4. Die zeitlichen Verhältnisse der Stickstoff-Schwefelausscheidung unter dem Einflusse der Brombenzolvergiftung.

Das Brombenzol wirkt auf den Stoffwechsel fast immer unmittelbar. Die Veränderungen in den Beziehungen zeigten sich innerhalb 4 Stunden, sicherlich aber innerhalb 8 Stunden nach Verabfolgung des Giftes. Es scheint ein leichter Unterschied zwischen der Schwefel- und der Stickstoffausscheidung zu bestehen, der darin zum Ausdruck kommt, daß die Veränderungen in den Beziehungen früher in den Stickstoff- als in den Schwefelkomponenten zutage treten. Die Verminderung der Desamidierungsfähigkeit scheint in den ersten 4 Stunden nach der Verabfolgung einer großen Menge Nahrungseiweiß deutlicher zu sein als zu irgend einer anderen Zeit des Versuches.

### 5. Der respiratorische Quotient während der Brombenzolvergiftung.

Die geringe Zahl der ausgeführten Versuche läßt keine deutliche Veränderung in dem Charakter des respiratorischen Quotienten während des Verlaufes der Intoxikation erkennen.

### 6. Die pathologisch-anatomischen Befunde bei Brombenzolvergiftung.

Die Betrachtung mit unbewaffnetem Auge sowie der mikroskopische Befund lehren, daß die Brombenzolvergiftung einen

durchaus ernsten Charakter besitzt; das zeigt sich an allen Organen, aber am ausgesprochensten an der Leber und an den Nieren. Die Vergiftung macht Entzündungserscheinungen mit sekundärer Protoplasmadegeneration und Nekrose; auch Zellendegeneration tritt ein.

## Literatur.

1) Abderhalden und Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. **45**, 468, 1905.
2) Alsberg and Folin, Amer. Journ. of Physiol. **14**, 54, 1905.
3) Baumann und Preuße, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **12**, 806, 1879; Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**, 311, 1881; **5**, 327, 1881.
4) Baumann und Krönig, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 525, 1892.
5) Baumann und Schmitz, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 586, 1895.
6) Bergmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 192, 1904.
7) Blum, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 1, 1904.
8) Brieger und Stadthagen, Berl. klin. Wochenschr. **1889**, 344.
9) Falta, Deutsches Arch. f. klin. Med. **86**, 517, 1906.
10) Fischer und Suzuki, Zeitschr. f. physiol. Chem. **45**, 405, 1905.
11) Fränkel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 435, 1895.
12) Freund, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **4**, 1, 1907.
13) Freund und Töpfer, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **3**, 632, 1906.
14) Friedmann, Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. **3**, 1, 1902; **4**, 486, 1904.
15) Goldmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**, 260, 1885.
16) Gottlieb und Stangassinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 1, 1907.
17) Hamäläienen und Helme, Skandinav. Arch. f. Physiol. **19**, 181, 1907.
18) Hildebrandt, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 365, 1902.
19) Jaffé, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **12**, 1093, 1879.
20) Krüger und Schmid, Zeitschr. f. physiol. Chem. **45**, 1, 1905.
21) Lambert and Wolf, Journ. of Biolog. Chem. **3**, 19, 1907.
22) Leathes, Journ. of Physiol. **35**, 125, 1906.
23) Levene and Sweet, Journ. of experim. Med. **9**, 229, 1907.
24) Löwy und Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 338, 1904; diese Zeitschr. **2**, 438, 1906.
25) Marriott and Wolf, Amer. Journ. of the med. Sciences, Febr. 1906.
26) Mester, Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 109, 1890.
27) Moreigne, Compt. rend. de la soc. de Biol. **50**, 1097, 1898; Arch. de méd. experim. **11**, 254, 1899.
28) Österberg und Wolf, diese Zeitschr. **5**, 304, 1907.
29) Österberg and Wolf, Journ. of Biolog. Chem. **3**, 165, 1907.
30) Reiß, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **8**, 332, 1906.
31) Roger, Compt. rend. de la soc. de Biol., 167, 1887.
32) Schaffer, Arch. f. d. ges. Physiol. **13**, 291.
33) Simon, Amer. Journ. of the med. Sciences **119**, 39, 1900.

34) Soetbeer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 25, 1904.
35) Symes, Journ. of Physiol. **32**, 221, 1905.
36) Underhill, Proc. of the Soc. for experim. Biol. and Med. New-York **4**, 144, 1907.
37) Weiß, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 407, 1895.
38) Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 81, 1903.
39) Wolf and Shaffer, Journ. of Biolog. Chem. **3**, 29, 1907.

## Berichtigung

zu E. Österberg und C. G. L. Wolf.

Diese Zeitschrift Band 5, Seite 309, Zeile 5 von oben lies: „totalen" Stickstoff statt neutralen Stickstoff.

# Das Verhalten der Frauenmilch zu Lab und Säure.

Von

**Dr. Bianca Bienenfeld.**

(Aus dem Laboratorium der Spiegler-Stiftung, Wien [Leiter: S. Fränkel].)

*(Eingegangen am 28. Oktober 1907.)*

Die Angaben der Literatur über die Fähigkeit der Frauenmilch, auf Zusatz eines wirksamen Labfermentes Käsebildung zu zeigen, sind sehr divergent. Die einen Autoren geben an, daß die Frauenmilch die Fähigkeit habe, auf Zusatz von Lab in einer im Verhältnis zur Labzeit der Kuhmilch wesentlich verlängerten Zeit zu gerinnen. So konnte Haffner[1]) Frauenmilch überhaupt nicht durch verdünnte Säuren, sondern nur durch Lab zur Gerinnung bringen. Andere dagegen haben im Reagensglas keine Erscheinung der Käsebildung beobachten können. Erst jüngst hat Petry[2]) behauptet, daß das Labferment „unwirksam sei gegen die bekanntlich ungerinnbare Frauenmilch". Auch L. F. Meyer[3]) hat in seinen aussichtsreichen klinisch-experimentellen Untersuchungen auf die Schwierigkeit der Labgerinnung der Frauenmilch hingewiesen und erst nach längeren Versuchen mit Hilfe von Kälte und Zufügen einer ganz geringen Menge Salzsäure einen Weg gefunden, Labkoagulation und damit die Käsebildung zustande zu bringen. Wie nun die Untersuchungen von Fuld und Wohlgemuth[4]) gezeigt haben, ist das

[1]) Haffner, Über den Einfluß von Salzen auf die Säuregerinnung. Diss. Tübingen 1901. Ref. Centralbl. f. Physiol. **1901,** 207.

[2]) E. Petry, Über die Einwirkung des Labfermentes auf das Casein. Wiener klin. Wochenschr. **1906,** Nr. 6; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **8,** 339.

[3]) L. F. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. **1906,** 1439 (Versammlung d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte in Stuttgart).

[4]) E. Fuld und J. Wohlgemuth, Über eine neue Methode zur Ausfällung des reinen Caseins aus der Frauenmilch durch Säure, Lab usw. Diese Zeitschr. **5,** 118, **1907.**

Gefrierenlassen der Frauenmilch ein direkt auf das Gerinnungsvermögen der Milch wirkender Vorgang. Sie konnten durch dreitägiges Gefrorenhalten der Frauenmilch ihre Gerinnungsfähigkeit auf Zusatz von Labenzym und Säure außerordentlich erhöhen. Der Angriffspunkt der Wirksamkeit der Kälte sei die kolloidale Beschaffenheit des Frauencaseins, dessen Elemente eine Vergrößerung und hiermit leichtere Ausfällbarkeit erlangen.

Diese Forscher haben auch beobachtet, daß derart vorbehandelte Frauenmilch auf Labzusatz allein bei Ausschluß eines Säurezusatzes keinerlei Gerinnung zeige. Setzten sie, wie in früheren Versuchen Szydlowski[1]) u.a., eine ganz kleine Menge Säure zu, um die Acidität der nativ alkalisch reagierenden Frauenmilch zu verändern, so konnten sie in der nun sauren Milch eine Labwirkung und damit eine Käseabscheidung erzielen. Die zugesetzte Säuremenge ist aber, wie Szydlowski ausdrücklich betont, so gering, „daß der Gedanke einer Caseinfällung durch die zugesetzte Säure zurückgewiesen werden müsse".

Ich bin nun von der Absicht ausgegangen, Frauencasein resp. den durch Labgerinnung erzeugten Käse einer eingehenden chemischen Untersuchung zu unterwerfen. Schon bei der Darstellung des Caseins nach den bis nun veröffentlichten Methoden (Pfeiffer[2]), der das Casein durch Salzsäure bei 62,5° C koagulierte, Hoppe-Seyler[3]), der mit Essigsäure unter Einleitung eines Kohlensäurestromes das Casein fällte, Makris[4]) und Tolmatscheff[5]), die mit Magnesiumsulfat, Wroblewski[6]), der den

---

[1]) Z. Szydlowski, Beitrag zur Kenntnis des Labenzyms nach Beobachtungen an Säuglingen. Jahrb. f. Kinderheilk. **1892**, 411; Prager med. Wochenschr. **17**, 365, 1892.

[2]) E. Pfeiffer, Verschiedenes über Muttermilch. Berl. klin. Wochenschr. **1882**, Nr. 44, 45.

[3]) F. Hoppe-Seyler, Virchows Archiv **17**, 417, 1859; Chem. Centralbl. **1865**, 784.

[4]) C. Makris, Studien über die Eiweißkörper der Frauen- und Kuhmilch. Diss. Straßburg 1876. Ref. Jahresber. f. Tierchem **6**, **113**, 1876.

[5]) Tolmatscheff, Zur Analyse der Milch. Hoppe-Seylers Untersuchungen, 2. Heft, 272, 1867.

[6]) A. Wroblewski, Beitrag zur Kenntnis des Frauencaseins. Basel 1894. Zit. bei Raudnitz, Bestandteile usw. der Milch in Asher u. Spiros Ergebn. d. Physiol. II. Jahrg., **1903**, I. Abt., 249.

durch Fällung mit Ammonsulfat entstandenen und in Wasser aufgenommenen Niederschlag mit Essigsäure fällte, Lehmann[1]), der eine Trennung des Caseins durch Filtration durch Tonfilter versuchte, Schloßmann[2]), der mit konzen- triertem Kalialaun fällte, und schließlich Kobrak[3]), der mit Essigsäure versetzte Milch 5 Tage gegen Chloroformwasser dialysierte), ergaben sich große Schwierigkeiten, wie sie auch allen Untersuchern auf diesem Gebiete begegnet sind. Erscheint es doch bei vielen von den genannten Fällungsmethoden zweifelhaft, ob Casein allein unter den Eiweißkörpern der Frauenmilch ausgefällt worden sei, da die Methoden durchaus keine Garantie dafür bieten.

Ob der hohe Albumingehalt der Frauenmilch im Vergleich zu ihrem Caseingehalt (Stohmann[4]) gibt als Verhältnis von Casein zu Albumin 6 : 1 für Kuhmilch, 1 : 1 für Frauenmilch an, Lehmann[5]) für Kuhmilch 10 : 1, für Frauenmilch 2,4 : 1) die Ursache für die Schwierigkeit der quantitativen Ausfällung des Frauencaseins und einer fraktionierten Bestimmung der Eiweißkörper bildet, oder ob in der verschiedenen chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Frauencaseins und seinem vom Kuhcasein verschiedenen Verhalten Fällungsmitteln des Kuhcaseins gegenüber die Ursache für die Schwierigkeit der Reindarstellung des Frauencaseins gelegen ist, mag vorläufig dahingestellt bleiben. Jedoch stützen die biologischen Untersuchungen die Anschauung, daß sich Frauencasein vom Kuhcasein, sowie von anderen tierischen Caseinen sehr stark unterscheide. So haben Schreiber und Dräger[6]) gezeigt, daß nicht nur die Injektion von Frauencasein ein vom Kuhcasein verschiedenes, spezifisches, präcipitierendes Serum liefert, sondern auch noch die Injektion der Verdauungsprodukte beider Caseine

---

[1]) W. Hempel, Die Milchuntersuchungen Prof. Lehmanns. Arch. f. d. ges. Physiol. **56**.

[2]) A. Schloßmann, Über die Eiweißstoffe der Milch und die Methoden ihrer Trennung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**.

[3]) E. Kobrak, Beitrag zur Kenntnis des Caseins der Frauenmilch. Arch. f. d. ges. Physiol. **80**, 69, 1900.

[4]) F. Stohmann, Milch und Molkereiprodukte, **1898**. Zit. bei Simon s. u.

[5]) Lehmann s. o.

[6]) Schreiber u. Dräger, Zur Chemie der Frauen- und Kuhmilch. Centralbl. f. Stoffwechselkrankh. **3**, 431.

durch künstlichen Magensaft. Somit müssen selbst diesen noch Unterschiede in der chemischen Konstitution anhaften.

Obwohl L. F. Meyer[1]) auf die Bekömmlichkeit des Kuhcaseins für den menschlichen Säugling jüngst hingewiesen und damit die Lehre von der toxischen Wirkung (Kuhmilchschaden) artfremden Eiweißes zu erschüttern versucht, und die differente Wirkung von Kuh- und Frauenmilch nicht in ihren Caseinen, sondern in ihren Molken und Salzen zu sehen glaubt, haben die chemischen Untersuchungen gewisse Differenzen in beiden Substanzen festgestellt. So fand Lehmann[2]) den Schwefelgehalt des genuinen (durch Tonfiltration) gewonnenen Caseins der Frauenmilch größer, seinen Gehalt an phosphorsaurem Kalk um die Hälfte kleiner als den des Kuhcaseins. Wroblewski fand bei der Pepsinverdauung des Frauencaseins kein Pseudonuclein im Gegensatze zum Kuhcasein.

Andererseits wieder haben die Abbauprodukte der beiden Caseine eine weitgehende Ähnlichkeit gezeigt. Abderhalden und Schittenhelm[3]) bestimmten den durch Hydrolyse aus dem Casein der Frauen- und Kuhmilch gewonnenen Tyrosingehalt (für Kuhcasein 4,5, für Frauencasein 4,71) und fanden somit nahezu gleiche Werte für beide Caseinarten. Sie betonen jedoch, daß die Struktur dieser beiden Eiweißkörper bei gleichen Bausteinen, bei gleichen Mengenverhältnissen der Elemente keineswegs identisch sein müssen.

Andererseits hat Röhmann[4]) auf dem internationalen Physiologenkongreß in Turin die Beobachtung mitgeteilt, daß das Casein der Frauenmilch die Reaktion von Molisch (mit $\alpha$-Naphtol und konzentrierter Schwefelsäure) zu besitzen scheint, während es für das Kuhcasein im Gegensatz zu vielen Eiweißkörpern feststeht, daß ihm ein Kohlehydratkomplex fehlt.

Allerdings ist Menschencasein, wie auch Raudnitz[5]) be-

---

[1]) L. F. Meyer, s. o.

[2]) W. Hempel, Die Milchuntersuchungen Prof. Lehmanns. Arch. f. d. ges. Physiol. **56**, 577.

[3]) P. Abderhalden und A. Schittenhelm, Vergleich der Zusammensetzung des Caseins aus Frauen-, Kuh- und Ziegenmilch. Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**.

[4]) F. Röhmann, Bericht des intern. Physiologenkongresses in Turin.

[5]) R. W. Raudnitz, Bestandteile usw. der Milch. Ergebn. d. Physiol. II. Jahrg., **1903**, I. Abt.

merkt, noch nicht rein dargestellt worden, und so konnte es geschehen, daß für die Frauenmilch ein Caseingehalt überhaupt von Béchamp[1]) und Radenhausen[2]) in Abrede gestellt wurde.

Ebenso divergent sind bei dem Mangel einer exakten quantitativen Caseindarstellung aus der Frauenmilch die Angaben über das Mengenverhältnis des Caseins zu den übrigen Eiweißkörpern der Frauenmilch. So fanden Lehmann und Hempel[3]) in ihren gewichtsanalytischen Untersuchungen 1,2% des die Tonfilter nicht passierenden genuinen Caseins und 0,5% Albumin. Der Filtration durch Tonzellen haftet der Fehler der ungenügenden Trennung von Casein, Albumin und Salzen an.

Für die Caseinbestimmung der Kuhmilch ist nach den vergleichenden Untersuchungen von Simon[4]) die exakteste und kürzeste Methode der Caseinfällung jene nach Schloßmann[5]) mit konzentriertem Kalialaun. Mittels dieser fand Zaitschek[6]) für die Frauenmilch für den Caseinstickstoff 34,6, 38,7 und 40% des Gesamtstickstoffes, für nach Hammarsten gewonnenes Kuhcasein 83% desselben.

Die Hammarstensche Methode der Fällung des Caseins aus Kuhmilch mittels verdünnter Essigsäure läßt sich nicht auf die Frauenmilch übertragen. Andererseits bietet die Schloßmannsche Methode der Fällung mittels konzentriertem Kalialaun keine Gewähr, daß das Gefällte ausschließlich Casein sei. Wir versuchten nun durch Labgerinnung aus der Frauenmilch Käse darzustellen und denselben einer Untersuchung zu unterziehen. Es wurde zu diesem Zwecke Frauenmilch, die mir gütigst von Herrn Primararzt Dr. Riether, dem Vorstand der niederösterreichischen Landesfindelanstalt, und von dem Vorstand der I. geburtshilflichen Klinik Hofrat Prof. Schauta zur Verfügung

---

1) A. Béchamp, Sur la constitut. des laits. Paris 1892. Zit. bei Raudnitz.

2) P. Radenhausen, Die Frauenmilch. Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 13, 1881.

3) Lehmann-Hempel s. o.

4) G. Simon, Beitrag zur Kenntnis der Eiweißkörper der Kuhmilch. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 466, 1901.

5) A. Schloßmann, Über die Eiweißstoffe der Milch und die Methoden ihrer Trennung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 22.

6) A. Zaitschek, Zur Kenntnis der Pepsinsalzsäurelöslichkeit der Milch und der Caseine. Arch. f. d. ges. Physiol. 104, 550.

gestellt wurde, verwendet. Die Milch stammte von Stillenden vom 4. Tage bis 4. Monate post partum; es wurden meist Mischmilchen verwendet. Um eine Entfettung der Milch zwecks leichtterer Filtration nach der Labung zu erzielen, wurde die Milch eine halbe Stunde lang auf einer elektrischen Zentrifuge (Tourenzahl 3000 pro Minute) zentrifugiert.

Es fiel auf, daß sich am Boden des Zentrifugalgefäßes ein reichliches, festanhaftendes Sediment absetzte; Kontrollversuche mit Kuhmilch ergaben, daß sich bei der gleichen Art des Ausschleuderns ein weit geringeres Sediment aus ihr abscheiden lasse, der sog. Zentrifugenschlamm, der zum größten Teile aus dem Milchschmutze besteht. Das Sediment der Frauenmilch war viel kompakter und reichlicher. Daß durch das Zentrifugieren das Casein der Frauenmilch nicht mit ausgeschleudert wurde, wie man aus den älteren Angaben der Literatur vermuten könnte, wonach Casein schon bei längerem Stehen vermöge der Schwere seines Moleküls ausfalle, ergibt die Stickstoffbestimmung der Vollmilch und der zentrifugierten, fett- und sedimentfrei abpipettierten Milch.

N (nach Kjeldahl) in 10 ccm Frauenmilch = 18,62 mg N,
in 10 ccm zentrifug. Milch = 18,20 mg N.

Sonach ergibt sich ein minimaler Unterschied in dem N-Gehalt beider Proben. Die geringe Differenz ist aber wahrscheinlich auf das Vorhandensein eines N-haltigen Phosphatides in der ausgeschleuderten Butter zu beziehen.

Wir konnten deutlich in der zentrifugierten Milch drei Schichten erkennen; eine Fettschicht, die Magermilch und das Sediment. Dieses zeigte im Mikroskop, neben Fetttröpfchen und vereinzelten Leukocyten, Krystalle. Das Sediment bestand neben Spuren organischer Substanz aus anorganischen Salzen. Das Sediment ergab geglüht einen weißen Rückstand, der sich in warmer, dünnter Salzsäure vollständig löste. In der Lösung ließen sich Calcium, Spuren von Magnesium, Phosphor und Schwefelsäure nachweisen. Es handelt sich sonach um mechanische Ausschleuderung von phosphorsaurem und schwefelsaurem Kalk nebst Spuren von Magnesiumsalzen. Bei dem sehr geringen Salzgehalt der Frauenmilch und insbesondere bei dem sehr geringen Kalkgehalt derselben (CaO in der Frauenmilch 0,032 gegen

0,17—0,2 in der Kuhmilch) ist es nun sehr auffallend, daß sich Kalksalze anscheinend in Suspension befinden und sich ausschleudern lassen. Ob deren Ausfällung auch die sogenannte Labgerinnung der Frauenmilch ungünstig beeinflußt, sollte untersucht werden.

Die zentrifugierte Frauenmilch wurde nun vom Fett getrennt und vom Sediment abgegossen.

Als Gerinnungsferment wurde eine Lösung von Witte's Labpulver, dessen Wirksamkeit mit 1 : 3 Millionen angegeben war, verwendet. 0,3 g derselben wurden in 100 ccm Leitungswasser gelöst, filtriert und auf Eis aufbewahrt (bei den Versuchen als Lablösung bezeichnet). Wir lösen die Fermente in Leitungswasser, weil nach Beobachtungen in diesem Institut destilliertes Wasser auf Enzyme sehr schädigend wirkt.

Als Maß für die Wirkung des Labfermentes wurde die Gerinnungszeit benützt mit Rücksicht auf das in gewissen Grenzen geltende Hansen-Fuldsche[1]) Zeitgesetz der Labung, daß unter gleichen Bedingungen die Gerinnungszeit der zugesetzten Labmenge direkt proportioniert ist, somit bei gleichbleibender Labmenge ein Maß für die Wirksamkeit gerinnungsfördernder und -hemmender Substanzen bildet; wenn auch Morgenroth, dem diese Methode keine hinreichend konstanten Werte zu liefern schien, jene geringste Menge Labpulver als Maß nahm, die fähig ist, Koagulation zu erzeugen.

Die Milch wurde sofort nach dem Labzusatz in ein Wasserbad von 40° C gestellt und die Zeit mittels Stoppuhr bestimmt. Es ergab sich nun in wiederholten Versuchen, daß 20 ccm native Frauenmilch + 5 ccm Lablösung nach $^1/_2$ Stunde keine Labung und 20 ccm zentrifugierter, von der Fettschichte und dem Sediment befreiter Frauenmilch + 5 ccm Lablösung nach $^1/_2$ Stunde gleichfalls keine Labung zeigten.

Um nun zu untersuchen, ob nicht etwa durch Zusätze die Gerinnungsunfähigkeit der Frauenmilch behoben werden könne, wurden folgende Versuche angestellt:

Zentrifugierte Frauenmilch + Lab + Gipswasser,
" " + Lab + Gipswasser + phosphorsaures Natrium,

[1]) Fuld, E., Über Milchgerinnung durch Lab. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2.

Zentrifugierte Frauenmilch + Lab + Gipswasser + der fein emulgierten Fettschicht

„ „ + Lab + der fein emulgierten Fettschicht,

„ „ + Lab + Lecithin,

„ „ + Lab + Gipswasser + Lecithin

zeigte in sämtlichen Versuchen nach 10′ keine Labung. Wir hatten den Versuch mit Lecithin allein, dessen Vorkommen in der Frauenmilch noch bestritten wird, angestellt, um zu sehen, ob nicht durch das Lecithin eine aktivierende Wirkung zu erzielen wäre.

Es ergab sich somit, daß sowohl die native Frauenmilch, als auch die Frauenmagermilch weder durch Zusatz der durch das Zentrifugieren abgerahmten Fette noch der ausgeschleuderten Salze labfähig gemacht werden konnte. Dagegen konnten wir durch Veränderungen der Acidität der Frauenmilch scheinbar eine Labgerinnung erzielen.

Die Acidität der Frauenmilch entspricht nach Courant[1]) 0,36 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH. Diese wurde als Durchschnittswert bei der Untersuchung von 24 Milchproben ermittelt. In gleicher Weise, wie Courant es tat, wurde auch in unseren Versuchen die Acidität durch Titrieren mittels $^{n}/_{10}$- resp. $^{n}/_{100}$-NaOH mit alkoholischer Phenolphthaleinlösung als Indicator ermittelt. Dabei fanden wir in der Mehrzahl der Fälle, daß 10 ccm Milch 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH verbrauchen, in einigen Fällen ganz frischer Milch jedoch, die sich weder durch sauren Geschmack noch etwa durch Koagulation beim Kochen als verändert erwies, wurden Werte von 0,9—1,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH gefunden.

Zur Steigerung der Acidität benutzte ich, von der Beobachtung der Spontangerinnung der Frauenmilch ausgehend, Milchsäure, und zwar eine $^{n}/_{10}$-Milchsäure.

Daß die Labwirkung durch Zusatz einer Säure beschleunigt wird, hat Pfleiderer[2]) für die Kuhmilch angegeben und gefunden, daß die Labwirkung am besten durch Salzsäure, dann

---

[1]) G. Courant, Über die Reaktion der Kuh- und Frauenmilch. Arch. f. d. ges. Physiol. **50**, 109, 1891.

[2]) R. Pfleiderer, Ein Beitrag zur Pepsin- und Labwirkung. Arch. f. d. ges. Physiol. **66**, 1897.

durch Milch-, Essig-, Schwefel- und Phosphorsäure in dieser angegebenen Reihenfolge unterstützt werde.

Die Versuche zeigten nun:

a) 5 ccm Frauenmilch (Acidität von 5 ccm = 0,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH) + 1 ccm Lablösung bei 40°
b) 5 ccm Frauenmilch + 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung
c) 5 ccm Frauenmilch + 0,3 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung
d) 5 ccm Frauenmilch + 0,5 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung

} nach 35′ keine Labung

e) 5 ccm Frauenmilch + 1,0 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablös., nach 6′ grobflockige Labung,
f) 5 ccm Frauenmilch + 1,3 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablös., nach 14′ kleinflockige Labung,
g) 5 ccm Frauenmilch + 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablös., nach 27′ kleinflockige Labung,
h) 5 ccm Frauenmilch + 2,0 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablös., nach 35′ keine Labung.

Bestimmen wir somit den Säuregrad des Versuches e), so ergibt sich eine Acidität von 2,4 $^{n}/_{10}$-NaOH auf 10 ccm Milch (erzeugt durch Zusatz von 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure auf 10 ccm Milch) als Optimum für das Zustandekommen der Labwirkung in der untersuchten Flüssigkeit.

Eine zweite Reihe zeigte ein ähnliches Verhalten.

a) 10 ccm Frauenmilch (Acidität = 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH) + 1 ccm Lablösung bei 40° nach 12′ keine Labung;
b) 10 ccm Frauenmilch + 1 ccm einer verdünnten Milchsäurelösung + 1 ccm Lablösung (Acidität der Flüssigkeit = 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH) nach 12′ keine Labung;
c) 10 ccm Frauenmilch + 2 ccm einer verdünnten Milchsäurelösung + 1 ccm Lablösung (Acidität der Flüssigkeit = 2,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH) labt schon bei 33° grobflockig.

Wir sehen also in b) bei einer Acidität der Flüssigkeit von 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH keine Labung, dagegen prompt eine solche bei einer Acidität von 2,4 ccm — fast der gleichen wie im vorigen

Versuche — eintreten. Die Acidität von 2,2—2,4 scheint also das Optimum der Säurewirkung zu sein, bei der Labung zustande kommt.

Bei einem Säurezusatz von 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zu 5 ccm Frauenmilch hatten wir im ersten Versuch keine Labung eintreten gesehen. Um nun zu entscheiden, ob die Menge von 2 ccm $^{n}/_{10}$-Säure etwa zerstörend auf das Labenzym gewirkt und daher die Labung verhindert habe, wurde folgender Versuch angestellt.

Wir ließen 1 ccm Lablösung + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure durch 5 Minuten aufeinander einwirken und setzten dann 5 ccm Frauenmilch zu. Nach 15′ zeigte sich keine Labung.

1 ccm Lablösung + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchs. durch 5′,<br>
dann + 5 ccm Frauenmilch<br>
+ 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH<br>
1 ccm Lablösung + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchs. durch 5′,<br>
dann + 5 ccm Frauenmilch<br>
+ 0,3 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH<br>
} nach 9 Minuten keine Labung.

1 ccm Lablösung + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchs. durch 5′,<br>
dann + 5 ccm Frauenmilch + 1 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH,<br>
sofort trat Labung ein.

1 ccm Lablösung + 1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchs. durch 5′ + 5 ccm Frauenm.,<br>
nach 3′ prompte Labung.

Der Versuch könnte sonach zeigen, daß ein deletärer Einfluß der zugesetzten Milchsäure auf das Labenzym nicht die Ursache der ausbleibenden Gerinnung sei, da die Labung prompt eintrat, als die nach den früheren Versuchen entsprechende neutralisierende NaOH-Menge zugesetzt wurde. Die Versuche könnten folgern lassen, daß zum Labungsvorgang der Frauenmilch eine gewisse Acidität vorhanden sein müsse, gleich 2,2—2,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, die durch Zusatz einer entsprechenden Menge Milchsäure zu der nativen Milch bewirkt wird. Der beschriebene und eine Reihe weiterer Versuche zeigten ferner, daß wenn man Milch übersäuert, keine Labung eintritt, wenn man aber den Säureüberschuß durch Alkalisieren wieder zu der gegebenen Grenze vermindert, wieder die Milch auf Lab gerinnt. Man könnte sonach schließen, daß ein entsprechender Milchsäurezusatz die Labungsfähigkeit der Frauenmilch im günstigsten Sinne fördert, da es ja bekannt ist, daß viele Fermentwirkungen

in schwach sauren Lösungen am besten vor sich gehen. Spätere quantitative Untersuchungen werden aber zeigen, daß diesen Ergebnissen eine andere Deutung zu geben ist.

Denn gleichzeitig mit $^{n}/_{10}$-Milchsäure allein angestellte Kontrollversuche zeigten folgende Resultate.

5 ccm Frauenmilch (Acidität = 0,4 ccm $^{n}/_{10}$ - NaOH) + 1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zeigt nach dem Hineinstellen in ein Wasserbad von 40° beim Erreichen dieser Temperatur eine ziemlich grobflockige Fällung.

Ob etwa ein Labgehalt der Milch, der sofort bei der milchsauren Reaktion der Milch wirksam wurde, die Ursache der Fällung resp. Gerinnung sei, sollte ein Versuch mit roher und gekochter Frauenmilch entscheiden.

5 ccm Frauenmilch (Acidität = 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH) + 0,5 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zeigt keine Fällung bei 40°;

5 ccm Frauenmilch + 1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zeigt prompt bei 40° grobflockige, reichliche Fällung;

5 ccm Frauenmilch + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zeigt nach längerem Stehen geringe Fällung;

5 ccm gekochte Frauenmilch + 1 ccm Milchsäure zeigt bei 40° prompt feinste Fällung.

Der Versuch beweist, daß die Ursache der Fällung der Frauenmilch durch Milchsäure nicht in dem Vorhandensein von Lab oder Prolab in der Frauenmilch gefunden werden kann, denn die Fällung trat auch prompt in der gekochten Milch auf.

Wir sehen somit, daß eine Fällung in der Frauenmilch auf Zusatz von bestimmten, einem Optimum entsprechenden Mengen von $^{n}/_{10}$-Milchsäure allein auftritt. Ferner zeigte sich, daß das Kochen die Milch derart beeinflußt, daß der ausfällbare Körper nicht in groben Flocken, sondern feinst verteilt erscheint. Diese Reaktion der Ausfällung durch Milchsäure geht auch bei Zimmertemperatur in allerdings längerer Zeit (bis 6 Minuten) vor sich, wie wiederholte Versuche zeigten. Sehr unterstützt wird sie durch starke Verdünnung der Milch. Als beste Verdünnung erwies sich eine vierfache Menge Wasser.

Eine Säurefällung des Caseins aus der Frauenmilch ist von Hoppe-Seyler[1]) und Pfeiffer[2]) angegeben worden. Während Berzelius eine Unmöglichkeit der Fällung des Frauencaseins durch Säure konstatierte, da sich das gefällte Casein wieder in der Säure löse, hat Pfeiffer die Methode Hoppe-Seylers, der Frauenmilch durch verdünnte Essigsäure unter Einleitung eines $CO_2$-Stromes nur unvollständig fällte — denn im Filtrat war noch Casein enthalten —, wieder aufgenommen und zum ersten Male angegeben, daß sich in der Frauenmilch nach Zusatz einer „adäquaten" Säuremenge das Casein beim Erwärmen koagulieren lasse. Er verwendete statt Essigsäure Salzsäure und benutzte Temperaturen von 50—54° R, entsprechend 62,5—67,5° C, Temperaturen also, die hart an der Grenze der Koagulierbarkeit auch der übrigen Eiweißkörper der Milch stehen. Die Methode Pfeiffers wurde quantitativ nicht weiter verfolgt.

Bekanntlich versagt die Methode Hammarstens der Fällung des Caseins aus Kuhmilch für die Frauenmilch, wie auch ein eigener Versuch zeigte.

230 ccm Magermilch wurden mit der vierfachen Menge Wasser verdünnt und 1,15 g Eisessig zugesetzt: es entstand nur ein ganz geringer Niederschlag.

Aus unseren Versuchen nun hat sich als beste Methode der Abscheidung des Caseins folgende Methode ergeben:

### Methodik der Abscheidung des Caseins aus Frauenmilch.

Man zentrifugiert die frische Frauenmilch auf rasch rotierender Zentrifuge bis zur Abscheidung des Fettes, entrahmt sodann mechanisch die Zentrifugalgläser und gießt vorsichtig die Magermilch, ohne Fett mitzureißen, vom Bodensatze ab. Hieraus wird in 10 ccm Magermilch die Acidität mit Phenolphthalein und $^n/_{10}$- und $^n/_{100}$-Lauge bestimmt; dann setzt man auf 10 ccm Magermilch so viel $^n/_{10}$-Milchsäure zu, bis die Acidität des Quantums ca. 2,5—3 ccm $^n/_{10}$-NaOH beträgt. Auf je 10 ccm Milch setzt man sonach die in der Vorprobe ermittelte $^n/_{10}$-Milchsäuremenge zu, verdünnt mit der vierfachen Menge Wassers und stellt die Flüssigkeit in ein Wasserbad von 40°. Bei 40° scheidet sich das

1) Hoppe-Seyler s. o.

2) Pfeiffer s. o.

Casein in Flocken ab, die sich zu einer oben schwimmenden Schicht sammeln. Es empfiehlt sich, während der Fällung gut zu rühren.

Wir haben in der Mehrzahl der Proben bei einer Acidität der Milch von welcher 10 ccm, 0,4 ccm Lauge verbrauchen auf Zusatz von 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zu 10 ccm Milch Abscheidung auftreten gesehen. Ist die Acidität der frischen Milch größer oder kleiner, so muß eben die entsprechend kleinere oder größere Menge Milchsäure zugesetzt werden.

Die unter der Caseinschicht befindliche Flüssigkeit ist leicht trüb. Im klaren Filtrat tritt weder auf Labzusatz noch auf Zusatz von Milchsäure eine Gerinnung resp. Fällung auf.

Der Rückstand der Milchsäurefällung wurde mit Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser die Reaktion von Molisch (mit $\alpha$-Naphthol-Schwefelsäure) nicht mehr gab und zeigte folgende Eigenschaften:

Er gibt die Biuretreaktion, die Xanthoprotein- und Millonsche Reaktion; die Reaktion nach Hopkins-Adamkiewicz ist deutlich. Die $\alpha$-Naphthol-Schwefelsäureprobe nach Molisch gibt eine deutliche rotviolette Färbung.

Weitere Untersuchungen über die chemische Natur und die Abbauprodukte des durch Milchsäure gefällten Körpers sind im Gange. Doch erscheint die Tatsache, daß dieser Körper deutlich die $\alpha$-Naphtholreaktion gibt und somit einen Kohlehydratanteil enthält, von wesentlicher Bedeutung und steht mit der Angabe Röhmanns über einen Kohlehydratkomplex des Frauencaseins in Einklang.

Ferner will ich nur im voraus, bevor die quantitativen Untersuchungen beendet sind, bemerken, daß der ausgefällte Körper phosphorhaltig ist. In Kalkwasser gelöst, zeigt derselbe auf Zusatz von Lab keine Labung.

Das Filtrat nach Abfiltrieren des durch Milchsäure gefällten Anteiles ist klar, gibt bei Halbsättigung mit Ammonsulfat nur eine schwache Opalescenz, bei Dreiviertelsättigung fällt ein zweiter Eiweißkörper aus, der die Biuret-, Xanthoprotein-, Millon- und Hopkins-Adamkiewicz-Reaktion deutlich, die Molisch-Reaktion schwach zeigt. Das Filtrat gibt ferner beim Kochen einen Niederschlag, der sich in der Wärme in Essig-

säure löst und beim Erkalten nicht herausfällt, in der Kälte jedoch in Essigsäure nicht löslich ist. Das Filtrat gibt auf Zusatz von verdünnter Essigsäure und Ferrocyankalium einen Niederschlag und gibt deutlich die Biuretreaktion.

Das zweite Filtrat nach Abfiltrieren des durch Dreiviertelsättigung mit Ammonsulfat entstandenen Niederschlages gibt beim Kochen keine Fällung, auch nicht auf Zusatz von Essigsäure. Auch konzentrierte Salpetersäure erzeugt keinen Niederschlag. Es gibt noch deutlich die Biuretreaktion. Neutralisiert, gab das Filtrat bei 30° mit Magnesiumsulfat ganz gesättigt eine geringe, sich auf Zusatz von Essigsäure verstärkende Fällung.

Untersuchungen der auf diese Weise gefällten Körper sind in diesem Institute im Gange.

### Quantitative N-Bestimmung des durch Milchsäure ausgefällten Frauencasein.

Sämtliche N-Bestimmungen wurden nach Kjeldahl ausgeführt. Der N-Gehalt des Labpulvers wurde dabei vernachlässigt.

I. Bestimmung.

In 10 ccm Frauenmilch (Acidität = 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH)
= **41,23** mg N[1]);

50 ccm durch Zentrifugieren entfettete Milch + 200 ccm Wasser
+ 10 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure geben bei 40° prompte Fällung;
in 20 ccm des Filtrates

a = 13,72 mg N
b = 13,44 mg N
Durchschnitt = 13,58 mg N,

somit in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = **35,3** mg N
Filtratstickstoff = 85,6% des Gesamtstickstoffes.

II. Bestimmung.

In 10 ccm Frauenmilch = 18,48 mg N.
20 ccm werden mit 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure versetzt, zeigte prompte
Fällung bei 40°;
in 5 ccm des Filtrates 6,86 mg N,
somit in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 16,45 mg N.
Filtratstickstoff = 89% des Gesamtstickstoffes.

[1]) Diese Milch besaß einen auffallend hohen N-Gehalt.

In übereinstimmender Weise zeigen beide Versuche, daß durch Milchsäure — im Verhältnis von 1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zu 5 ccm Frauenmilch zugesetzt — ein Eiweißkörper ausfällt, der 11—14,6% des Gesamtstickstoffes enthält.

Zur Feststellung, inwieweit sich eine Differenz zwischen der Menge des durch Milchsäure gefällten Frauencaseins und der durch Zusatz von Lab zu mit Milchsäure angesäuerter Milch gebildeten Paracaseins konstatieren lasse, dienten drei weitere Bestimmungen.

I. Versuch.

1. in 10 ccm Frauenmilch = 17,92 mg N.
2. 20 ccm Milch werden mit 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure versetzt, bei 40° fällt ein Niederschlag aus;
   in 6 ccm des Filtrates 7,98 mg N,
   somit in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 15,96 mg N.
3. 20 ccm Milch + 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung, bei 40° fällt ein Niederschlag aus;
   in 6,2 ccm des Filtrates = 7,84 mg N,
   somit in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 15,68 mg N.

Filtratstickstoff (nach Fällung mit Milchsäure allein) = 89% des Gesamtstickstoffes;

Filtratstickstoff (nach Versetzen mit Lab und Milchsäure) = 87,5% des Gesamtstickstoffes.

II. Versuch.

a) In 10 ccm Frauenmilch = 19,46 mg N.
b) 20 ccm Milch werden mit 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure versetzt, bei 40° entsteht ein Niederschlag;
   in 12 ccm Filtrat entsprechend 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 15,4 mg N.
c) 20 ccm Milch + 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung; bei 40° entsteht ein Niederschlag, nach Absetzen desselben filtriert;
   in 12,5 ccm Filtrat entsprechend 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 14,14 mg N.

b) Filtratstickstoff (nach Fällung mit Milchsäure allein) = 79,1% des Gesamtstickstoffes.

c) Filtratstickstoff (nach Versetzen mit Lab und Milchsäure) = 72,6% des Gesamtstickstoffes.

III. Versuch.

a) In 10 ccm Frauenmilch (Acidität = 1,0 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH), = 21,70 mg N.

b) 20 ccm Milch + 4 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zeigt sofort beim Hineinstellen ins Wasserbad von 40° Fällung, nach 15′ wird filtriert;
in 4 ccm Filtrat = 5,46 mg N,
daher in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 1,64 mg N.

c) 10 ccm Milch + 2 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 1 ccm Lablösung zeigt gleichfalls bei 40° einen Niederschlag, nach 15′ wird filtriert;
in 4 ccm Filtrat = 5,32 mg N,
daher in 10 ccm stickstoffhaltiger Flüssigkeit = 1,73 mg N.

b) Filtratstickstoff (nach Fällung mit Milchsäure allein) = 76% des Gesamtstickstoffes;

c) Filtratstickstoff (nach Labung mit Milchsäure und Lab) = 79,7% des Gesamtstickstoffes.

Tabelle I.

| Versuch | N-Gehalt in 10 ccm Frauenmilch | N-Gehalt in 10 ccm des Filtrates nach Milchsäurefällung | Filtratstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffs (nach Milchsäurefällung) | Caseinstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffs (nach Milchsäurefällung) | N-Gehalt in 10 ccm des Filtrates nach Milchsäure- und Labfällung | Filtratstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffes (nach Säure- und Labfällung) | Caseinstickstoff in Prozenten des Gesamtstickstoffes (nach Säure- und Labfällung) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I. | 41,23 mg | 35,3 mg | 85,6 % | 14,4 % | | | |
| II. | 18,48 | 16,45 | 89 | 11,0 | | | |
| III. | 17,92 | 15,96 | 89 | 11,0 | 15,68 mg | 87,5 % | 12,5 % |
| IV. | 19,46 | 15,4 | 79,1 | 20,9 | 14,19 | 72,6 | 27,4 |
| V. | 21,70 | 16,4 | 76 | 24 | 17,3 | 79,7 | 20,3 |

Die Zusammenstellung ergibt sonach:

Behandelt man Frauenmilch in der früher angegebenen Weise, so fällt auf Zusatz von Milchsäure (1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure auf 5 ccm Milch) ein phosphorhaltiger Eiweißkörper aus, der als Durchschnittswert aus fünf Bestimmungen 16,2% des Gesamtstickstoffes an Stickstoff enthält.

Die drei Kontrollversuche mit Milchsäure und Lab ergaben nahezu die gleiche gefällte Eiweißmenge wie die Fällung mit Milchsäure allein.

Wir erkennen daraus, daß bei der Einwirkung von Säure und Lab auf Frauenmilch nur eine Säurefällung und nicht eine Gerinnung durch Lab zustande kommt. Der ausgefällte Körper ist also als Säurecasein und nicht als Käse aufzufassen. Eine Labwirkung scheint so gut wie ausgeschlossen. Die Versuche gestatten auch den Schluß, daß das Labferment auf das durch Säure gefällte Casein der Frauenmilch nicht jenen von Hammarsten als das wesentliche an der Labwirkung geschilderten Vorgang einer Umwandlung des Caseins in eine ein unlösliches Kalksalz bildende Modifikation (Paracasein) und Abspaltung einer Substanz, des Molkeneiweißes, bewirkt hat; da es sich zeigte, daß fast die gleiche Menge stickstoffhaltiger Substanz in dem Filtrat vorhanden war, sowohl wenn Lab zur milchsauren Milch zugesetzt wurde, als auch ohne dasselbe. Hätte das Lab seine Wirkung geübt, so hätte man mit der Spaltung in Molkeneiweiß eine Zunahme des N-Gehaltes im Filtrat erwarten müssen. Daß eine solche für Kuhmilch vorliegt, hat erst ganz kürzlich Preti[1]) in quantitativen Untersuchungen über den Unterschied des Säure- und Labkuhcaseins gezeigt. Er fand im Filtrate nach der Essigsäurefällung 0,084 g in 100 ccm, 0,0957 g in 100 ccm und 0,078 g in 100 ccm N, im Filtrate nach der Labgerinnung 0,224 g in 100 ccm, 0,1526 g in 100 ccm und 0,205 g in 100 ccm N, somit entsprechend den Vorstellungen Hammarstens über die Labgerinnung mit der Abspaltung von Molkeneiweiß einen weit größeren N-Gehalt des Filtrates als bei der Säurefällung.

Ich führe noch zwei Bestimmungen an alter Frauenmilch an, welche den Anschein hervorrufen, als ob die Spontansäuerung der Milch durch Stehenlassen die Milch labfähig mache.

I. Bestimmung.

In 10 ccm frischer Milch, Acidität = 0,9 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH;
in 10 ccm 48 h alter Milch, Acidität = 1,3 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH;
in 10 ccm der frischen Milch **12,110** mg N.

Diese Milch wird gelabt und gerinnt schon bei 26° feinflockig. Nach 10′ wird filtriert.

In 10 ccm des Filtrats 5,74 mg N.

Filtratstickstoff = **47,4%** des Gesamtstickstoffes.

---

[1]) Preti, Luigi, Über die spontane Ausscheidung einer Caseinverbindung aus Milch. Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 419, 1907.

II. Bestimmung.

In 10 ccm ganz frischer Frauenmilch 24,71 mg N.

Die Milch wird 4 Tage auf Eis aufbewahrt; danach reagierte sie gegen Lackmus sauer, zeigte beim Kochen keine Gerinnung, auf Zusatz von Lab trat bei 40° sofort grobflockige Gerinnung ein.

In 10 ccm des Filtrates 7,84 mg N.

Filtratstickstoff = 31,7%.

Für den entstandenen Käse fanden wir sonach den N-Wert von 52,6 und 68,3% des Gesamtstickstoffes. Es scheint somit, als ließe sich mit Zunahme der Acidität durch Spontansäuerung das Casein auslaben. Eine befriedigende Erklärung lassen vorläufig diese Versuche nicht zu.

Es wurde noch die Stickstoffverteilung bei der Filtration durch die Tonzelle (Pukalfilter) angeschlossen, um die ermittelten Werte des die Tonzelle nicht passierenden Caseinanteiles mit dem durch Milchsäure gefällten Eiweißkörper etwa in Vergleich setzen zu können.

I. Bestimmung.

In 10 ccm Vollmilch = 18,41 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrat = 12,24 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 66,54% des Gesamtstickstoffs.

II. Bestimmung.

In 10 ccm zentrifugierter Milch = 24,08 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrat = 20,58 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 85% des Gesamtstickstoffes.

III. Bestimmung.

In 10 ccm zentrifugierter Milch = 13,30 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrat = 9,38 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 70% des Gesamtstickstoffes.

IV. Bestimmung.

In 10 ccm zentrifugierter Milch = 14,49 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrat = 7,28 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 50,3% des Gesamtstickstoffes.

V. Bestimmung.

In 10 ccm zentrifugierter Milch = 12,110 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrat = 8,54 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 70,52% des Gesamtstickstoffes.

VI. Bestimmung.

In 10 ccm Vollmilch = 16,24 mg N,
in 10 ccm Pukalfiltrates = 6,86 mg N.

Stickstoff des Pukalfiltrates = 42,4% des Gesamtstickstoffes.

Tabelle II.

| Versuch | N-Gehalt in 10 ccm Frauenvollmilch | N-Gehalt in 10 ccm Pukalfiltrat | N des Pukalfiltrates in % des Gesamtstickstoffes | N des abgetrennten Caseins in % des Gesamtstickstoffes |
|---|---|---|---|---|
| I | 18,41 mg | 12,24 mg | 66,54 % | 33,46 % |
| II | 24,08 | 20,58 | 85,0 | 15,0 |
| III | 13,30 | 9,38 | 70 | 30 |
| IV | 14,49 | 7,28 | 50 | 50 |
| V | 12,11 | 8,54 | 70 | 30 |
| VI | 16,24 | 6,86 | 42,4 | 57,6 |

Das Pukalfiltrat ist opalescierend, reagiert neutral und gibt beim Kochen einen Niederschlag, der sich in Essigsäure aufhellt; es gibt schwach die Millon- und Biuretreaktion, deutlich die Xanthoproteinreaktion, gibt mit Hopkins Reagens keine Violett-, sondern Gelbfärbung, die durch Rubinrot ins Braune übergeht. Mit Salpetersäure gibt das Filtrat eine milchige Trübung, die beim Kochen nicht verschwindet. Caseinabscheidung nach Schloßmann mit konzentriertem Kalialaun bei 40° gelingt nicht, auch nicht auf Zusatz von Chlorcalcium. Ebensowenig ließ sich im Pukalfiltrat bei 40° auf Zusatz von 2,0 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure zu 10 ccm Pukalfiltrat ein Niederschlag ausfällen. Das Pukalfiltrat labte weder nach Zusatz von Calciumchlorid noch angesäuert mit Milchsäure (nur in einem einzigen Falle beobachteten wir eine Ausscheidung auf Zusatz von Lab).

Das Filtrat gab halbgesättigt mit Ammonsulfat bei neutraler Reaktion einen Niederschlag, der sich auf Zusatz von Essigsäure verstärkt und das gesamte Eiweiß enthält, denn das Filtrat davon gibt keine Biuretreaktion mehr. Bei neutraler Reaktion fällt mit Magnesiumsulfat kein Niederschlag aus, auf Zusatz von Essigsäure fällt jedoch das ganze Eiweiß aus.

Die Inkonstanz in den Werten des das Tonfilter nicht passierenden Eiweißanteiles (15, 30, 30, 33,46, 50 und 57,6%

des Gesamtstickstoffes betrug der N-Gehalt des abgeschiedenen Eiweißes) und der weitaus größere Wert als der, den wir durch die Milchsäurefällung ermittelt haben, bestätigt die Tatsache, daß mit dem Casein vermutlich auch andere Eiweißmoleküle im Filter zurückgehalten werden und die Filtration durch Tonzellen zu einer quantitativen Bestimmung des Caseinkalkanteiles oder des genuinen Caseins in der Frauenmilch in dieser Ausführung nicht verwertet werden können.

Es ergeben sich aus diesen Untersuchungen somit zunächst als bemerkenswerteste Resultate folgende:

1. Die Frauenmilch läßt sich nicht laben.

2. Die in der schwach angesäuerten Milch auf Labzusatz beim Erwärmen entstehende Fällung ist nur eine Säurefällung und hat, wie die quantitativen Untersuchungen gezeigt haben, mit der Labwirkung nichts zu tun.

3. Bei einer Acidität der Frauenmilch von ca. 2,4—3 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH in 10 ccm, erzeugt durch Zusatz von $^{n}/_{10}$-Milchsäure zur Milch, tritt beim Erwärmen auf 40°, aber auch schon in der Kälte, eine Abscheidung des Caseins ein. Dieses durch Säure gefällte Casein enthält nur 16,2% des Gesamtstickstoffes.

4. Die übrigen Eiweißkörper lassen sich durch Dreiviertelsättigung mit Ammonsulfat aussalzen.

5. Das durch Säure gefällte Frauencasein scheint einen Kohlehydratkomplex zu enthalten. Über die chemische Zusammensetzung der Eiweißkörper werden die Untersuchungen fortgesetzt.

# Zur Phylloxanthinfrage.

Von

**L. Marchlewski.**

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Krakau.)

*(Eingegangen am 31. Oktober 1907.)*

Obwohl die Phylloxanthinfrage meinem Dafürhalten nach schon zur Zeit erledigt war, als ich mich gezwungen sah, den Äußerungen des Herrn Tswett entgegenzutreten, so habe ich doch in letzter Zeit die früheren Angaben einer Revision unterworfen, um so mehr, als auch das Phylloxanthin in meinem Laboratorium in verschiedenen Richtungen weiter untersucht wird[1]). Auf Grund dieser neuesten Untersuchungen muß ich meine frühere Behauptung, daß Tswett in bezug auf das Phylloxanthinspektrum unrecht hat, in vollem Maße aufrecht erhalten. Sein Versuch, unsere Differenzen durch die Hypothese zu erklären, es gebe zwei verschiedene Phylloxanthine, ist vorderhand durchaus unnötig.[2]) Die Differenzen, welche zwischen uns bestehen, erklären sich einfach dadurch, daß Herr Tswett bei der Darstellung des Phylloxanthins irgend einen experimentellen Fehler begangen hat und infolgedessen eine Substanz erhielt, die nicht das richtige Spektrum besaß. Damit fällt aber auch seine Annahme, daß Phylloxanthin und „Chlorophyllan $\beta$" identische Spektren be-

---

[1]) Koźniewski und Marchlewski, Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie **1907**, 616. Es sei schon hier erwähnt, daß es gelang, das Phylloxantrubin in schönen Krystallen zu erhalten.

[2]) Während der Drucklegung dieser Notiz erschien Heft 5 und 6 dieser Zeitschrift mit einer Berichtigung von Tswett, aus der sich ergibt, daß er nicht an zwei verschiedene Phylloxanthine, sondern Phyllotaonine dachte. Dementsprechend habe ich den Schlußpassus der vorliegenden Notiz geändert.

sitzen, falls dem letzteren tatsächlich ein Spektrum zukommt, wie es von Tswett geschildert wird. Ich wiederhole: Tswetts Angabe, Phylloxanthin verursache im Spektrum sechs Bänder zwischen B und F, ist unrichtig, ein Band zwischen dem 1. Band auf C und dem Band bei D existiert im optisch reinen Phylloxanthin nicht. Eine Substanz, die ein solches Band enthält, ist entweder kein Phylloxanthin oder aber nur unreines Phylloxanthin. Die Tatsache, daß Phylloxanthin früher ohne Beimischung von Fetten nicht erhalten werden konnte, ändert an der Sache selbstverständlich gar nichts, und halte ich meine früheren Präparate trotzdem auch in dieser Beziehung für reiner als die Tswettschen, der dieselben überhaupt nicht gereinigt hat und sich nicht der Mühe unterzog, die von ihm beschriebenen Substanzen überhaupt in fester Form zu isolieren. Tswetts Untersuchungsmethode unterscheidet sich übrigens diesbezüglich gar nicht von der der ältesten Forscher auf dem Chlorophyllgebiet, deren Resultate gerade aus diesem Grunde in der Mehrzahl der Fälle unrichtig sein mußten.

Im Bande auf E des Phylloxanthinspektrums habe ich selbst schon vor längerer Zeit eine Aufhellung bemerkt, bei Anwendung von verdünnten Lösungen und besonders weiter Spaltbreite; ich habe nichts dagegen, wenn dasselbe als „Dublette" bezeichnet wird.

Bezüglich der Bänder im stärker gebrochenen Teile des Spektrums unterließ ich früher und unterlasse es auch heute, mich irgendwie auszusprechen. Mit Ausnahme des Chlorophylls, Phylloporphyrins und Phylloerythrins habe ich selbst keine Chlorophyllderivate photographisch untersucht. Die Forschung dieser Spektrumregion ist aber jetzt in meinem Laboratorium mit Hilfe eines für mich konstruierten Quarzspektrographen von Hilger im Gange. Herr Tswett irrt übrigens nicht nur in bezug auf das Phylloxanthin, sondern auch auf das Phyllocyanin. Das erste Band bei C ist niemals von einem derartig akzentierten Schatten begleitet, wie dies Tswetts Zeichnung veranschaulicht. Einen derartigen Schatten, der geradezu ebenfalls eine „Dublette" mit dem ersten bildet, bemerkt man allerdings manchmal in Phyllocyaninpräparaten, wenn dieselben unrein sind. Ich habe denselben wiederholt bei Präparaten, die nach Tschirchs Methode dargestellt wurden, konstatieren können.

Ich hebe mit Genugtuung hervor, daß Herr Tswett seine letzten Auslassungen doch in einem Ton verfaßt hat, der vorteilhaft von seinem früher gepflogenen abweicht, und wenn er dafür in Privatbriefen an mich eine Kompensation sucht, so beweist dies leider nur, wie wenig ernst er wissenschaftliche Polemik anschlägt.

Trotz dieser Wendung in Tswetts öffentlichem Auftreten muß aber doch hervorgehoben werden, daß er in den zwischen uns bestehenden Streit Angelegenheiten hinein zerrt, die gar nicht zur Sache gehören. Er spricht von einem „Gebäude der Chlorophyllchemie" in einer Art, als habe er erst bewiesen, daß an den Chlorophyllen noch sehr lange zu arbeiten wäre! Auch mißbraucht er, meiner Ansicht nach, Willstätters Aussagen für seinen Zweck. Wenn Willstätter die bewiesene chemische Verwandtschaft des Phylloporphyrins und Hämatoporphyrins für die weitgehenden Schlüsse Nenckis als nicht beweisend erklärt, so ist er natürlich durchaus hierzu berechtigt. Eine Hypothese wie die, von welcher hier die Rede ist, bleibt aber immerhin geistreich und wird vielleicht auch fruchtbringend wirken. Mit derselben Berechtigung könnte man Willstätters Hypothese über die Rolle des Magnesiums im Assimilationsprozeß als unbewiesen zurückweisen, trotzdem bleibt sie glänzend und anregend, und für eine solche halte ich sie selbst. Übrigens sehe ich nicht ein, warum beide Hypothesen nicht nebeneinander bestehen können. Daß die physiologischen und chemischen Rollen des Blutfarbstoffs und der Chlorophylle total verschieden sind, ist ja längst bekannt. Diese Verschiedenheit spricht aber keineswegs gegen die genetischen Beziehungen beider im Sinne der Ausführungen von Nencki. Einen Zusammenhang jedoch zwischen diesen Sachen und dem Phylloxanthinspektrum zu finden vermag ich nicht.

Ebenso mißbraucht Tswett Willstätters Namen im Zusammenhang mit Phyllocyanin. Über diesen Gegenstand hat sich W. nicht geäußert. Daß Umwandlungen jeglicher Art an so komplizierten Molekeln wie die der Chlorophylle nicht glatt verlaufen werden, ist a priori vorauszusehen. Nichtsdestoweniger werde ich demnächst ausführlich zeigen, daß Chlorophyll neben Phylloxanthin weitaus in größter Menge nur ein Produkt liefert, welches in 15% Salzsäure löslich ist, nämlich das längst bekannte Phyllocyanin. Dabei hat sich gezeigt, daß Willstätters Phäo-

phytin nichts anders ist als das von Schunck und mir so häufig benutzte Sediment, welches durch Einwirkung von Salzsäure auf Chlorophylllösungen entsteht. Wie dieses Produkt so gibt auch Phäophytin stets Phylloxanthin und gelänge es, die von Willstätter befürwortete Einheitlichkeit des Phäophytins strikte zu beweisen, was bis jetzt meiner Ansicht nach nicht geschehen ist, dann ist auch Tswetts Annahme über den Zusammenhang zwischen Phylloxanthin und Allochlorophyll resp. Chlorophyllin $\beta$ zu streichen.

# Zur biologischen Bedeutung des Lecithins.

## I. Mitteilung.

Von

**W. Glikin.**

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

*(Eingegangen am 31. Oktober 1907.)*

Wir wissen, daß bei einigen Säugetieren die Jungen sehr hilflos, nackt, mit verschlossenen Augen zur Welt kommen, so z. B. beim Kaninchen, beim Hunde, bei der Katze, daß auch der neugeborene Mensch recht hilflos ist, während andere weiter entwickelt sind, sich sogar gleich selbständig umherbewegen können, z. B. das Kalb, das Fohlen, das Ferkel, das Lamm usw. Das Meerschweinchen ist imstande, sofort nach der Geburt sich selbst mit der Nahrung der Mutter, mit Kohl usw. zu nähren; die Milch spielt in der Ernährung des neugeborenen Meerschweinchens fast keine Rolle.

Noch interessanter, ja auffallender gestaltet sich dieses Phänomen bei den Vögeln. Man unterscheidet bekanntlich unter den Vögeln Nesthocker und Nestflüchter.

Die Nesthocker sind beim Auskriechen aus dem Ei nackt und vollständig hilflos, werden von den Eltern gefüttert. Die weitere Entwicklung beansprucht eine verschieden lange Zeit: kleinere Nesthocker sind drei Wochen nach dem Auskriechen flügge, größere bedürfen mehrere Monate; gerade diejenigen, die als Erwachsene die größte Beweglichkeit und Stärke besitzen, sind in der Jugend ungemein hilflos. Die Nestflüchter dagegen kommen befiedert und mit ausgebildeten Sinnen zur Welt, so daß sie imstande sind, einige Minuten nach dem Auskriechen unter Führung der Mutter oder sogar ohne jegliche Hilfe ihren Weg selbständig zu gehen und Nahrung zu suchen.

Es liegt nahe zu fragen, welche Besonderheiten in der chemischen Zusammensetzung des Tierkörpers bzw. des Eies mit diesen Verschiedenheiten einhergehen. Es liegt auch eine ganze Reihe von Untersuchungen vor, die in physiologischer Hinsicht von Bedeutung sind: so über die Zusammensetzung der Asche von verschiedenen jungen Tieren, es ist eine Analogie zwischen der Asche des jungen Tieres und der Muttermilch nachgewiesen worden, ferner sind die Beziehungen der Wachstumsgeschwindigkeit des Säuglings zur Zusammensetzung der Milch bei verschiedenen Säugetieren festgestellt worden; endlich wissen wir aus den Versuchen Zaleskis, daß das neugeborene Tier einen bedeutenden Eisenvorrat in der Leber mit auf die Welt bringt. Bei näherer Betrachtung dieser Befunde fällt es auf, daß sich keine der Untersuchungen mit dem für den tierischen Organismus so wichtigen Lecithin befaßt. Es erschien mir deshalb von besonderem Interesse, dieser Frage näher zu treten.

Im folgenden will ich den Versuch machen festzustellen, welche Rolle dem Lecithin in diesem Falle zukommt. Meine Untersuchungen des Knochenmarkes verschiedener Tiere und des Menschen auf den Lecithingehalt bieten einen gewissen Anhaltspunkt[1]).

Die Untersuchungen haben ergeben, 1. daß das Mark junger Tiere einen bedeutend höheren Lecithingehalt aufweist als das ausgewachsener; 2. daß der Lecithingehalt mit dem Wachstum des Tieres abnimmt; 3. daß die neugeborenen Tiere einen großen Vorrat an Lecithin mit auf die Welt bringen. Ferner habe ich die Beobachtung gemacht, daß der Lecithingehalt beim menschlichen Kinde entsprechend dem Wachstum nicht so rasch abnimmt wie beim Tiere; daß der Lecithingehalt beim Kinde ein entsprechend der langsamen Entwicklung jahrelang sehr hoher bleibt; endlich, daß der Lecithingehalt bei verschiedenen Tieren gleichen Alters verschieden groß ist. So wurde gefunden im Fett des Knochenmarkes

| | | |
|---|---|---|
| vom jungen Kalb | 6,76% | Lecithin |
| „ „ Hammel | 6,51% | „ |
| „ Ferkel (24 Stunden alt) | 31,16% | „ |
| „ „ (20 „ „ ) | 30,16% | „ |

[1]) Glikin, diese Zeitschr. 4, 235, 1907.

| | | |
|---|---|---|
| vom Hund (eben geboren) . . . . . . . . . | 37,70% | Lecithin |
| „ Kind ($13^1/_2$ Monate alt) . . . . . . . . | 29,24% | „ |
| „ „ (16 „ „ ) . . . . . . . . . | 24,93% | „ |
| „ „ (2 Jahre alt) . . . . . . . . . . | 13,38% | „ |

Werfen wir einen Blick auf diese Befunde und erinnern wir uns an das verschiedene Entwicklungsstadium der hier in Betracht kommenden Tiere und des Kindes bei der Geburt, so fällt der hohe Lecithingehalt beim Hunde, der blind und hilflos geboren wird, sowie beim Kinde besonders ins Auge; das Schwein, das entwickelter auf die Welt kommt, weist im Vergleich zum Hunde einen geringeren Lecithingehalt auf. Was das Kalb und den Hammel anbetrifft, können wir vorläufig keinen direkten Vergleich anstellen, da uns das Alter nicht ganz genau bekannt war; wir konstatieren aber einen bedeutend geringeren Lecithingehalt, der wahrscheinlich mit der bei der Geburt weiter fortgeschrittenen Entwicklung dieser Tiere in Zusammenhang steht. Wir hoffen, daß die weiteren Untersuchungen nach dieser Richtung hin unsere Annahme bestätigen werden.

Inzwischen habe ich den Lecithingehalt bei neugeborenen Kaninchen, Katzen und Meerschweinchen im ganzen Körper, mit Ausnahme des Darmes, bestimmt.

Zwei Kaninchen vom Gesamtgewicht 59,50 g gaben:

| | |
|---|---|
| Trockensubstanz . . . . . . . . | 10,00 g, darin |
| Fett . . . . . . . . . . . . . . . | 1,8733 g = 18,73% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 0,0432 g = 2,306% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | 2,306 × 11,366 = 26,21% |
| „ in der Trockensubstanz des Tieres . . . . . . . . . . . | $26,21 \times \frac{18,73}{100} = 4,91\%$ |

Katze vom Gesamtgewicht 73,00 g gab:

| | |
|---|---|
| Trockensubstanz . . . . . . . . | 18,00 g, darin |
| Fett . . . . . . . . . . . . . . . | 2,7445 g = 15,25% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 0,08015 g = 2,919% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | 2,919 × 11,366 = 33,18% |
| „ in der Trockensubstanz des Tieres . . . . . . . . . . . | $33,18 \times \frac{15,25}{100} = 5,06\%$ |

Zwei **Meerschweinchen** vom Gesamtgewicht 164 g gaben:

| | |
|---|---|
| Trockensubstanz . . . . . . . . . | 33,00 g, darin |
| Fett . . . . . . . . . . . . . . . | 7,1225 g = 21,88% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 0,1086 g = 1,52% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | 1,52 × 11,366 = 17,34% |
| „ in der Trockensubstanz des Tieres . . . . . . . . . . . . | $17{,}34 \times \frac{21{,}88}{100} = 3{,}79\%$ |

Der Vergleich zwischen dem Lecithingehalt im ganzen Körper des Kaninchens und der Katze einerseits und des Meerschweinchens andererseits führt ebenfalls zu der Annahme, daß die blind und hilflos geborenen Tiere mit einem höheren Lecithingehalt auf die Welt kommen als die entwickelter geborenen.

Noch frappanter gestalten sich die Unterschiede bei den Vögeln — den Nesthockern und Nestflüchtern.

Von der Beobachtung bei den Säugetieren geleitet, kam ich auf den Gedanken, denselben Vergleich bei den Vögeln anzustellen. Hier liegen die Verhältnisse ganz anders, man kann sagen, viel bequemer, weil wir die Eier der Vögel untersuchen können und daraus bereits die Unterschiede ersehen, falls solche vorhanden sind.

Das Hühner-, Gänseei, mit einem Wort, die Eier unserer Hausvögel sind vielfach und eingehend untersucht worden; wir kennen genau die Zusammensetzung des Eiweißes und des Eidotters, soweit unsere theoretischen und analytischen Kenntnisse auf diesem Gebiete reichen. Wir wissen unter anderem, daß das Eiweiß der Hühner und der meisten Nestflüchter, mit Ausnahme der Kibitze, beim Kochen zu einer opaken Masse erstarrt, während das Weiße in den Eiern der Nesthocker beim Sieden vollständig durchsichtig bleibt, wobei sich eine deutlich fluorescierende Gallerte bildet; dieses Eiweiß hat Tarchanow als „Tataeiweiß" bezeichnet. Jedoch unterscheidet sich dieses durchsichtige Eiweiß der Nesthocker, wie Tarchanow ausführt, prinzipiell nicht von dem der Nestflüchter. Seine eigentümliche Gerinnungsweise ist wahrscheinlich nur auf einen besonderen Reichtum an basischen Salzen zurückzuführen, so daß sich beim Kochen gallertig erstarrendes Alkalialbuminat bildet. Legt man Hühnereier 2—3 Tage lang in 10 prozentige Kalilauge, so diffundiert etwas Alkali in das Eiweiß hinein und man erhält beim

Kochen der Eier künstliches Tataeiweiß, das mit dem natürlichen der Nesthocker die größte Ähnlichkeit hat.

Was den Eidotter anbetrifft, so sind bis jetzt keine Unterschiede zwischen Nesthockern und Nestflüchtern bekannt.

Gestützt auf meine Befunde bei den jungen Säugetieren, habe ich vorläufig mein Augenmerk auf den Wasser-, Fett- und Lecithingehalt gerichtet. Die Annahme lag nahe, daß hier irgend welche Abweichungen zwischen den Eiern der Nestflüchter und Nesthocker vorhanden sein müßten; dafür spricht auch die Analogie zwischen den Nesthockern und den blind und nackt geborenen Säugetieren, bei denen wir einen hohen Lecithingehalt festgestellt haben.

Diese Untersuchungen bieten nur insofern Schwierigkeiten, als wir nicht leicht Material bekommen können.

Ich teile im folgenden alle meine Resultate mit, obwohl sich später herausstellte, daß die anfänglich von mir angewandte Methode eine unvollkommene war.

Von Nesthockern standen mir zuerst vier Taubeneier, die von einer Taube in unserem Laboratorium gelegt wurden, ein Ei von einer Turteltaube und ein Ei von einem Star zur Verfügung.

In folgender Tabelle bringe ich das Gesamtgewicht der Taubeneier, das Gewicht ihrer Schale, des Dotters und Eiweißes.

Tabelle I.

| | Gesamtgewicht g | Schale g | Dotter g | Eiweiß g |
|---|---|---|---|---|
| 28. Mai . . . | 17,31 | 1,20 | 3,84 | 12,27 |
| 30. Mai . . . | 18,51 | 1,20 | 4,16 | 13,15 |
| 7. Juni . . . | 17,00 | 1,20 | 3,92 | 11,88 |
| 9. Juni . . . | 18,30 | 1,20 | 3,86 | 13,34 |

Untersucht wurden je zwei Dotter auf ihren Wasser-, Fett- und Lecithingehalt. Die Analysen gaben folgende Resultate:

Tabelle II.

| Dotter | Angewandte Substanz | Trockensubstanz | | Fett in der Trockensubstanz | | $P_2O_5$ im Fett | | Lecithin im Fett | Lecithin in der Trockensubstanz |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | g | % | g | % | mg | % | % | % |
| 3,841 } 4,163 } | 8,001 | 3,6620 | 45,75 | 2,3829 | 65,07 | 75,48 | 3,16 | 35,73 | 23,37 |
| 3,924 } 3,857 } | 7,781 | 3,5502 | 45,63 | 2,2329 | 62,89 | 75,55 | 3,88 | 38,42 | 24,16 |

Ei von einer Turteltaube. Der Dotter war schwer vom Eiweiß zu trennen, so daß das ganze Ei, das Weiße und der Dotter, untersucht werden mußten.

| | |
|---|---|
| Gesamtgewicht . . . . . . . . . . | 7,20 g |
| Trockensubstanz . . . . . . . . | 1,3146 g, darin |
| Fett . . . . . . . . . . . . . . . | 0,5793 g = 44,06% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 23,80 mg = 4,104% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | 4,104 × 11,366 = 46,65% |
| „ in der Trockensubstanz . | $46,65 \times \frac{44,06}{100} = 20,55\%$ |

Das Ei vom Star war angebrochen und etwas war ausgeflossen, so daß das Gewicht des Eies unbekannt war. Der geringen Menge wegen wurde der ganze Inhalt des Eies, das Weiße und der Dotter, verarbeitet.

0,9492 g Trockensubstanz gaben:

| | |
|---|---|
| Fett . . . . . . . . . . . . . . . | 0,2683 g = 28,26% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 15,22 mg = 5,67% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | 5,67 × 11,366 = 64,44% |
| „ in der Trockensubstanz . | $64,44 \times \frac{28,26}{100} = 18,21\%$ |

Um sich ein Urteil über die erzielten Resultate zu bilden, müssen die Lecithinwerte des Taubendotters mit denen des Hühnereigelbs verglichen werden. Zu diesem Zweck habe ich einen aliquoten Teil von zehn Hühnerdottern getrocknet, mit Alkohol und Chloroform in der von mir bereits angegebenen Weise extrahiert und in dem Extrakt Phosphor nach Neumann bestimmt.

55,23 g frischen Eidotters gaben 30,00 g = 54,31% Trockensubstanz, darin ätherlösliche $P_2O_5$ 0,3619 g, entsprechend 13,71% Lecithin in der Trockensubstanz, resp. 7,44% auf feuchten Eidotter berechnet.

Vergleichen wir die Werte in der Tabelle II mit den beim Hühnerdotter gefundenen, so konstatieren wir beim Taubendotter im Wasser-, Fett- und Lecithingehalt einen höheren Wert als beim Hühnerdotter; besonders auffallend ist der fast doppelt so hoher Lecithingehalt. Nun finden wir aber in der Literatur über den Lecithingehalt des Hühnerdotters Angaben, die von unserem Befund etwas abweichen. So enthält

der Hühnerdotter nach Parke[1]) 10,70% Lecithin, nach Laves[2]) beträgt die Menge 8,90%, nach Manasse[3]) 9,40%, während ich nur 7,44 % fand, eine Differenz, die allerdings nicht zu vernachlässigen ist.

Die in der Literatur angegebenen Lecithinwerte sind aus feuchtem Dotter durch Extraktion mit absolutem Alkohol erhalten worden, während ich von der Trockensubstanz resp. trocknem Dotter ausgegangen bin. Die Möglichkeit, daß der trockene Dotter dem Extraktionsmittel nicht so leicht zugänglich ist wie der feuchte, ist durchaus nicht ausgeschlossen.

Um dies zu prüfen, habe ich von demselben Dotter, in dessen Trockensubstanz eine Lecithinbestimmung nach der Alkohol-Chloroformmethode gemacht wurde, frisch 27,00 g mit Alkohol und 32,00 g mit Alkohol-Chloroform extrahiert. Ich habe folgende Werte erhalten:

Frischer Hühnerdotter.

a) Mit Alkohol extrahiert 27,00 g, darin ätherlösliche $P_2O_5$ 0,1989 g = 8,37% Lecithin;

b) mit Alkohol-Chloroform extrahiert 32,00 g, darin ätherlösliche $P_2O_5$ 0,2551 g = 9,06% Lecithin.

Derselbe nach dem Trocknen extrahiert (s. oben) 7,44%.

Gleichzeitig habe ich auch im frischen Dotter von zwei Taubeneiern, die von derselben Taube am 8. und 16. Juli gelegt wurden, den Lecithingehalt bestimmt.

Ei a) mit Alkohol extrahiert.

Angewandt 4,5410 g feuchten Dotters (8. Juli), darin gefunden ätherlösliche $P_2O_5$: 0,0522 g = 13,05 % Lecithin.

Ei b) mit Alkohol-Chloroform extrahiert.

Angewandt 4,2388 g feuchten Dotters (16. Juli), darin gefunden ätherlösliche $P_2O_5$: 0,0478 g = 12,82% Lecithin.

---

[1]) Hoppe-Seyler, Med.-chem. Unters. 1867.

[2]) Laves, Pharm. Zeit. 48, 814.

[3]) A. Manasse, diese Zeitschr. 1, 1906. — Auf die Abhandlung von John Malcolm „Note on the percentage composition of egg-yolk", Journ. of Physiol. 27, Dez. 1901, werde ich in der 2. Mitteilung näher eingehen

**Um einen klaren Überblick über die nach den verschiedenen Methoden erhaltenen Lecithinwerte zu gewinnen, bringe ich die Resultate in tabellarischer Ordnung.**

Tabelle III.

| | Zustand | Extraktionsmittel | Lecithin in feuchtem Dotter | Lecithin in trocknem Dotter | Lecithingehalt nach Laves | | Lecithingehalt nach Manasse | | Lecithingehalt nach Parke | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | feucht | trocken | feucht | trocken | feucht | trocken |
| Taubendotter | **trocken** | Alkohol-Chloroform | 10,70 | 23,37 | | | | | | |
| do. | " | do. | 11,02 | 24,16 | | | | | | |
| do. | **feucht** | Alkohol | 13,05 | 28,54 | | | | | | |
| do. | " | Alkohol-Chloroform | 12,82 | 28,03 | | | | | | |
| Hühnerdotter | **trocken** | Alkohol-Chloroform | 7,44 | 13,71 | | | | | | |
| do. | **feucht** | Alkohol | 8,37 | 15,41 | 8,90 | 16,80 | 9,41 | 17,80 | 10,70 | 18,37 |
| do. | " | Alkohol-Chloroform | 9,06 | 16,69 | | | | | | |

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß der von uns gefundene Lecithinwert im feuchten Hühnerdotter nicht wesentlich von den von Parke, Laves und Manasse angegebenen differiert. Deutlicher treten die Differenzen im Wassergehalt hervor: So fand ich z. B. im Durchschnitt von zehn Dottern einen Wassergehalt von 45,69%, während Parke 47,20% angibt, und Manasses Bestimmung ergab in einem Dotter einen Gehalt von 55,10%, in einem anderen sogar 58,37%. Da die letzten Werte nur Einzelfälle darstellen und von den ersten derart abweichen, so können wir sie nicht zu den Durchschnittswerten zählen und haben wir bei der Umrechnung den von Manasse im feuchten Hühnerdotter ermittelten Lecithingehalt 9,41% auf die von den Vereinbarungen angenommene Trockensubstanz 52,80% bezogen. So ergibt sich ein Lecithingehalt auf Trockensubstanz berechnet: Parke 18,37%, Laves 16,80%, Manasse 17,80%, Glikin 16,69% — Werte, die nicht allzu weit voneinander entfernt sind, zwei stimmen sogar vollständig überein.

Vergleichen wir den Lecithingehalt im feuchten Taubendotter mit dem im Hühnereigelb, so ergibt sich dasselbe Resultat

wie beim Trockendotter — ein bedeutend höherer Gehalt. So finden wir im feuchten Taubendotter einen Lecithingehalt von 13,05% = 28,54% und 12,82% = 28,03% in der Trockensubstanz, während das Hühnereigelb in letzterer 16,69% resp. 17,80% aufweist, in maximo aber 18,37% (Parke) — eine Differenz, die keiner besonderen Erläuterung bedarf.

Die Werte bei der Turteltaube und beim Star können nicht direkt mit denen des Hühnerdotters verglichen werden, da das ganze Ei, das Weiße und der Dotter, zusammen analysiert wurden. Aber auch in diesem Falle finden wir in der Trockensubstanz einen höheren Lecithingehalt.

Was die Methodik anbetrifft, konstatieren wir auch hier, daß die Alkohol-Chloroformmethode im feuchten Dotter den höchsten Lecithingehalt liefert; beim Trockendotter erhalten wir geringere Werte. Ob unsere Annahme richtig ist, daß der Trockendotter dem Extraktionsmittel nicht so leicht zugänglich ist, können wir auf Grund dieser Befunde nicht entscheiden. Wir müssen uns vielmehr überzeugen, ob nicht der Trockendotter nach dem Extrahieren dem Extraktionsmittel noch Lecithin abgeben würde, wenn wir ihn nochmals getrocknet, im Mörser fein zerrieben und wieder mit Alkohol-Chloroform behandelt haben. So haben wir beim trocknen Taubendotter, nachdem wir ihn mit Alkohol-Chloroform extrahiert und einen Lecithingehalt von 24,16% gefunden haben, bei der Wiederholung der Extraktion nach dem Zerreiben noch einen Gehalt von 7,17% Lecithin nachweisen können. Dasselbe beobachten wir beim feuchten Dotter; wir finden nach dem Trocknen des bereits extrahierten feuchten Dotters noch einen Gehalt von 4,77% Lecithin auf Trockensubstanz berechnet.

Daß die Werte, die im Hühnerdotter gefunden wurden, hiernach nicht einwandsfrei sind, braucht keine besondere Erläuterung. Wir hielten es deshalb für notwendig, die Bestimmung des Lecithins im Hühnereigelb nochmals auszuführen, wobei wir folgende Erwägungen in Betracht gezogen haben. Der Dotter bildet beim Trocknen ein Koagulum oder einen Kuchen, der, wenn auch zerkleinert, vom Extraktionsmittel nicht vollständig durchdrungen werden kann; beim feuchten Dotter tritt die Bildung dieses Kuchens während der Extraktion ein, so daß die Erschöpfung der Substanz nur dann möglich ist, wenn wir ihn getrocknet und fein zerrieben haben. Um die Bildung dieses

Kuchens zu beseitigen und dem Extraktionsmittel den Zutritt leicht zu machen, hielten wir es für angebracht, den Dotter mit Seesand zu zerreiben.

Die Versuchsanordnung haben wir diesmal folgendermaßen getroffen: Acht Hühnerdotter wurden vom Eiweiß sorgfältig getrennt und gut durchgemischt; ein Teil davon wurde frisch mit Alkohol extrahiert, ein anderer mit Alkohol-Chloroform, ein Teil wurde getrocknet und dann mit Alkohol-Chloroform behandelt, ein Teil wurde frisch mit Seesand zerrieben und mit Alkohol, ein anderer mit Alkohol-Chloroform extrahiert, und endlich wurde ein Teil mit Seesand zerrieben, getrocknet, dann wieder zerrieben und mit Alkohol-Chloroform extrahiert.

Trockensubstanz.

9,3364 g feuchten Dotters gaben 5,7807 g = 61,92% Trockensubstanz.

1. Feuchter Dotter mit Alkohol extrahiert.
   Angewandt 16,90 g Substanz, darin 0,1521 g = 0,89% ätherlösliche $P_2O_5$;
   Lecithin im feuchten Dotter: 10.23%;
   ,, in der Trockensubstanz: 16,52%.
2. Feuchter Dotter mit Alkohol-Chloroform behandelt.
   Angewandt 17,05 g Substanz, darin 0,1622 g = 0,95% ätherlösliche $P_2O_5$;
   Lecithin im feuchten Dotter: 10,81%;
   ,, in der Trockensubstanz: 17,46%.
3. Trockendotter mit Alkohol-Chloroform extrahiert.
   Angewandt 15,50 g Substanz, darin 0,2127 g = 1,37% ätherlösliche $P_2O_5$;
   Lecithin im feuchten Dotter: 9,65%;
   ,, in der Trockensubstanz: 15,60%.
4. Feuchter Dotter mit Seesand zerrieben und mit Alkohol extrahiert.
   Angewandt 16,60 g Substanz, darin 0,1657 g = 0,99% ätherlösliche $P_2O_5$;
   Lecithin im feuchten Dotter: 11,35%;
   ,, in der Trockensubstanz: 18,33%.

5. Feuchter Dotter mit Seesand zerrieben und mit Alkohol-Chloroform extrahiert.

Angewandt 17,40 g Substanz, darin 0,1876 g = 1,08% ätherlösliche $P_2O_5$;

Lecithin im feuchten Dotter: 12,25%;

„ in der Trockensubstanz: 19,79%.

6. Feuchter Dotter mit Seesand getrocknet, zerrieben und mit Alkohol-Chloroform extrahiert.

Angewandt 21,70 g Substanz, darin 0,2391 g = 1,10% ätherlösliche $P_2O_5$;

Lecithin im feuchten Dotter: 12,52%;

„ in der Trockensubstanz: 20,23%.

Um uns zu überzeugen, daß der Dotter bei 5. und 6. vollständig erschöpft war, haben wir bei 2. und 3., wo wir weniger Lecithin erhalten haben, den extrahierten Dotter getrocknet, fein zerrieben und mit Alkohol-Chloroform behandelt. Wir fanden bei

2. 2,01 mg $P_2O_5$ = 1,34% Lecithin im feuchten resp. 2,17% im Trockendotter.

Gesamtgehalt: 12,15% resp. 19,63%.

3. 6,08 mg $P_2O_5$ = 2,76% Lecithin im feuchten resp. 4,46% im Trockendotter.

Gesamtgehalt: 12,41% resp. 20,07%.

Fassen wir sämtliche Werte tabellarisch zusammen, erhalten wir folgendes Bild:

Aus dieser Tabelle ist es klar zu ersehen, daß man durch das Zerreiben mit Seesand, sei es im feuchten, sei es im Trockendotter, eine vollständige Erschöpfung der Substanz leichter erzielen kann, selbstverständlich beim Extrahieren mit Alkohol-Chloroform; die Extraktion mit Alkohol allein gibt uns niedrigere Werte.

Vergleichen wir die endgültigen Resultate beim Hühnerdotter mit den Resultaten beim Taubendotter, so bleibt auch hier die große Differenz bestehen und berechtigt uns zu der Annahme, daß die Eidotter der Nesthocker sich von den Eidottern der Nestflüchter durch einen bedeutend höheren Lecithingehalt unterscheiden.

**Tabelle IV.**

| | Extraktionsmittel | % Lecithin im feuchten Dotter | % Lecithin im Trockendotter | |
|---|---|---|---|---|
| Hühnerdotter | | | | |
| 1. Feucht .... | Alkohol | 10,23 | 16,52 | |
| 2. Feucht .... | Alkohol-Chloroform | 10,81 | 17,46 | resp. 12,15 und 19,61 nach Erschöpfung |
| 3. Trocken .... | Alkohol-Chloroform | 9,65 | 15,61 | resp. 12,41 und 20,07 nach Erschöpfung |
| 4. Feucht mit Seesand zerrieben . | Alkohol | 11,35 | 18,33 | |
| 5. Feucht mit Seesand zerrieben . | Alkohol-Chloroform | 12,25 | 19,79 | |
| 6. Feucht mit Seesand getrocknet | Alkohol-Chloroform | 12,52 | 20,23 | |
| Taubendotter | | | | |
| 1. Trocken (7. u. 9./VI.) . . | Alkohol-Chloroform | 14,09 | 31,33 | Rest zerrieben und nochmals mit Alkohol-Chloroform extrahiert |
| 2. Feucht (16./VII.) | Alkohol-Chloroform | 15,00 | 32,80 | Rest getrocknet, pulverisiert und nochmals mit Alkohol-Chlor. behandelt |
| 3. Feucht (8./VII.) | Alkohol | 13,05 | 28,54 | |

Zum Schluß möchte ich noch die Resultate eines von mir untersuchten neugeborenen Nesthockers bringen, den ich zufällig gefunden habe. Der Vogel war noch vollständig nackt; ich konnte leider nicht feststellen, welcher Vogelart er gehörte, es war wahrscheinlich eine Drossel oder ein Star.

| | |
|---|---|
| Gesamtgewicht . . . . . . . . . | 12,50 g, darin |
| Trockensubstanz . . . . . . . . | 2,0671 g = 16,54%, darin |
| Fett . . . . . . . . . . . . . . | 0,6600 g = 31,92% |
| $P_2O_5$ im Fett . . . . . . . . . . | 14,885 mg = 2,25% |
| Lecithin im Fett . . . . . . . . | $2{,}25 \times 11{,}366 = 25{,}63\%$ |
| „ in der Trockensubstanz . | $25{,}63 \times \frac{31{,}92}{100} = 8{,}18\%$ |

Stellen wir diese Werte mit den beim neugeborenen Hunde, Kaninchen, bei der Katze gefundenen nebeneinander, erhalten

wir ein Bild, das unsere Annahme, daß zwischen diesen Säugetieren und den Nesthockern eine vollständige Analogie nicht allein in den äußeren Merkmalen zu bestehen scheint, am deutlichsten illustriert, und erkennen, daß der Hilflosigkeit bei der Geburt ein höherer Lecithingehalt entspricht.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. N. Zuntz, der mir mit Rat und Tat zur Seite stand, sage ich für die mir bewiesene Liebenswürdigkeit meinen verbindlichsten Dank.

---

# Über die Vorgänge der Gärung vom Standpunkt der Katalyse.

Von

**H. Schade,**

Privatdozent in Kiel.

*(Eingegangen am 4. November 1907.)*

Die Vorgänge bei der Hefegärung sind in den letzten Heften dieser Zeitschrift wiederholt der Gegenstand ausführlicher Erörterung gewesen. Namentlich die interessanten zusammenfassenden Arbeiten von F. Ehrlich[1]) und von A. Wohl[2]) haben uns im Zusammenhange ein Bild davon entworfen, wie auf diesem lange Zeit ganz der Physiologie zugehörigen Gebiet die reine Chemie befruchtend und klärend einzuwirken vermocht hat. Sicherlich verdient dieses Thema möglichst allseitig angefaßt zu werden. Mir scheint speziell in dem Zusammengehen der physiko-chemischen Forschung und der biologischen Beobachtung ein aussichtsreicher Weg zur Förderung dieser Fragen zu liegen[3]).

Es ist bekannt, daß die Wirkung vieler Fermente, wenigstens in ihrem chemischen Endergebnis, vermittels einfacher anorganischer Katalysatoren reproduziert erhalten werden kann. Die Lehre von der Katalyse, welche in ihrer von Ostwald gegebenen theoriefreien Abgrenzung auch die Fermentwirkungen einbezog, hat an zahlreichen Beispielen[4]) den Parallelismus der fermentativen und katalytischen[5]) Erscheinungen nachgewiesen. Den

[1]) Diese Zeitschr. **2**, 52, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. **5**, 45, 1907.

[3]) In gekürzter Form und speziell für die Frage des Diabetes mellitus bearbeitet, ist der Inhalt dieser Abhandlung bereits in: Schade, Die Bedeutung der Katalyse für die Medizin, Kiel, Verlag W. G. Mühlau, 1907, veröffentlicht worden.

[4]) Vgl. z. B. die eingehenden Untersuchungen Senters (Zeitschr. f. physikal. Chem. **44**, 257; **51**, 673) über die Hämase (verglichen mit dem Bredigschen Platinsol.). — Vgl. besonders auch Bredig, Altes und Neues von der Katalyse. (Diese Zeitschr. **6**, 283, 1907.)

[5]) Im folgenden wird von „katalytisch" gemäß den zurzeit vorherrschenden Anschauungen unter Ausschluß der fermentativen Prozesse gesprochen.

Physikochemiker hat besonders das vergleichende Studium des zeitlichen Ablaufes dieser Prozesse gefesselt, und es ist bekannt, wie befruchtend diese quantitative Bearbeitung auf unsere Anschauungen in der ganzen Fermentfrage eingewirkt hat. Für die Probleme der Gärung scheint mir, da bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse zur erfolgreichen Verwertung der quantitativzeitlichen Methoden noch die erforderlichen Grundlagen fehlen, die Verfolgung der qualitativen Parallelen von großem Interesse.

Bevor ich mich dem experimentellen Material, welches betreffs der katalytischen Abbaureaktionen des Zuckers vorliegt, zuwende, möchte ich mit einer kurzen Ausführung auf einem physiologisch nahestehenden Gebiet ein Bild des Zusammengehens der katalytischen Prozesse mit denen des fermentativ vermittelten Chemismus in der Zelle geben. Es sei das Gebiet des tierischen resp. menschlichen Kohlehydratstoffwechsels (vorerst abgesehen natürlich von den Abbauprozessen der Hexosen) herausgegriffen und betreffs der wichtigsten Einzelvorgänge in einfacher Gegenüberstellung angegeben, was die Fermente an „spezifischen" Wirkungen „hervorbringen", und was die freiwillige, nur durch Katalysatoren einfachster anorganischer Art beschleunigte Zersetzung resp. Umsetzung der Substanzen zutage treten läßt.

Bei der ersten Gruppe der hierher gehörigen Vorgänge, bei den vorbereitenden hydrolytischen Spaltungen der Kohlehydrate im Magendarmkanal handelt es sich um Reaktionen, die sämtlich auch katalytisch reproduzierbar gefunden werden:

| Ferment | Reaktion des Ferments | Katalysator, mit einer der Fermentreaktion entsprechenden Wirkung |
|---|---|---|
| Diastase | Stärke $\rightleftarrows$ Dextrine $\rightleftarrows$ Zucker | H-Ionen (Kirchhoff[1])) |
| Maltodextrase | Maltose $\rightleftarrows$ 2 Dextrose | H-Ionen (Meißl[2]) Sigmond[3])) |
| Invertin | Saccharose $\rightleftarrows$ Dextrose + Fructose | H-Ionen, Platin usw. (Ostwald[4]), Arrhenius[5])) |
| Lactodextrase | Lactose $\rightleftarrows$ Dextrose + Galaktose | H-Ionen (Pasteur[6]), Tollens u. Kent[7])) |

1) Schweiggers Journ. **4**, 108.
2) Zeitschr. f. anal. Chem. **22**, 115.
3) Zeitschr. f. physikal. Chem. **27**, 386.
4) Journ. f. prakt. Chem. **29**, 385.
5) Zeitschr. f. physikal. Chem. **4**, 227.
6) Compt. rend. soc. biol. **42**, 347.
7) Zeitschr. d. Ver. d. d. Zuckerindustrie **35**, 40.

Die zweite Gruppe der Kohlehydratreaktionen des Körpers betrifft die Umbildung in Reservestoffe. Auch hier läßt sich ein Parallelismus zur Katalyse erkennen:

| Chemischer Vorgang | Ferment | Katalytische Analogie |
|---|---|---|
| Synthese der Hexosen zu Glykogen | durch „Zelltätigkeit", Ferment unbekannt | fehlt bislang (Synthesen an sich katalytisch sehr wohl möglich[1])) |
| Hydrolytische Spaltung des Glykogens in Traubenzuckermoleküle | durch Fermente, z. B. auch durch Buchnersche Zymase[2]) | Gleicher Prozeß durch H-Ionen[3]) |
| Umbildung von Zucker (Dextrose) in Fett (ev. Fettsäuren) | durch Zelltätigkeit; näheres unbekannt | Bei Platinmohr als Katalysator läßt die Dextrose Fettsäuren entstehen (Loew[4])) |

Weiterhin sind im Körper noch Umwandlungen der Hexosen unter Beibehaltung der Hexosenstruktur aufgefunden worden; diese mögen hier als dritte Gruppe folgen:

| Reaktion im Körper | Katalytische Analogie (OH-Ionen als Katalysator) |
|---|---|
| Fructose $\rightleftarrows$ Dextrose<br>Mannose $\rightarrow$ Dextrose | Dextrose $\rightleftarrows$ Fructose $\rightleftarrows$ Mannose[5]) |
| Umwandlung der Galaktose in Dextrose (?) | Umwandlung in isomere Zuckerarten (l-Talose, Galtose, l-Sorbinose usw.[6]) |

Wenn wir die sämtlichen hier angegebenen anorganisch-katalytischen Reaktionen zusammenfassen und in ein einheitliches Schema einfügen, so erhalten wir die folgende Übersicht:

---

[1]) Die für reversible Prozesse theoretisch geforderte Umkehrbarkeit der Katalyse ist sowohl für Fermente (Croft Hill u. a.) als auch für anorganische Katalysatoren wiederholt experimentell bewiesen, so z. B. die rein anorganisch-katalytische Synthese der Fette durch Neilson für Platin als Katalysator (Americ. Journ. of Physiol. **10**, 191, 1904; Physiol. Institut von J. Loeb).

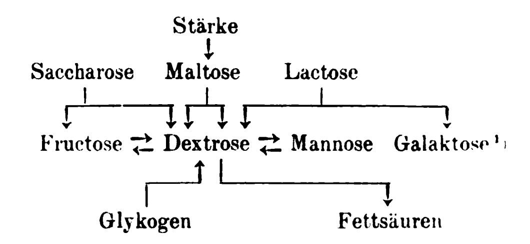
[2]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903, 98.

[3]) Vgl. Abderhalden, Physiol. Chem. **1906**, 47.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **23**, 289, 678, 865.

[5]) Recueil des traveaux chim. des Pays Bas. **14**, 156, 203; **16**, 262 (Lobry de Bruyn u. Alberda von Ekenstein).

[6]) Ibidem (Dieselben); vgl. auch Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **28**, 3078.




Dieses Skelett der katalytischen Reaktionen entspricht aber zugleich fast völlig den fermentativen Prozessen, wie sie beim Kohlehydratstoffwechsel des tierischen Organismus beobachtet werden. Die Abweichungen sind auffallend geringe; eigentlich bedarf es nur der drei folgenden Abänderungen resp. Ergänzungen:

1. Die Reaktion Fructose ⇄ Dextrose ⇄ Mannose (Gleichgewicht indes nur angenähert!) ist bisher im Körper lediglich in dem beschränkenden Sinne der Teilgleichungen Fructose ⇄ Dextrose und Mannose ⇄ Dextrose beobachtet worden.

2. Der Vorgang Glykogen ⇄ Dextrose ist im Körper sicher reversibel: katalytisch ist er jedoch nur in der einen, oben verzeichneten Richtung beobachtet worden.

3. Die Umbildung der Dextrose zu Fettsäuren darf nicht mit der im Körper vor sich gehenden Umbildung der Kohlehydrate zu Fett direkt in Beziehung gesetzt werden; für die Beurteilung der hier maßgebenden Vorgänge fehlen zurzeit noch die Grundlagen.

Dieser überaus weitgehende Parallelismus der Wege bei der Fermentwirkung und bei der Katalyse, der keineswegs vereinzelt, etwa nur auf dem hier angezogenen Gebiet hervortritt, der vielmehr auch bei einer großen Zahl anderer Fermentprozesse, so z. B. bei der Spaltung der Glykoside[2]) und bei den Vorgängen der Fettverseifung und Fettsynthese[3]) usw. wiederkehrt, zeigt uns die Wichtigkeit der katalytischen Forschung von einer besonderen, bislang noch weniger beachteten Seite. Die Erfahrung, daß viele der eingehender untersuchten Fermentprozesse sich unter katalytischer Beeinflussung in artähnlicher Weise reproduzieren lassen, muß auffordern, nun auch bei den in ihrem Chemismus noch un-

---

[1]) Die Umwandlung der Galaktose in Isomere (s. o.) ist in diesem Schema der Übersichtlichkeit willen fortgelassen worden.

[2]) Vgl. V. Henri, Tammann, Herzog u. a.

[3]) Vgl. Kastle und Loevenhart, Neilson, Bodenstein und Dietz u. a.

bekannten Fermentvorgängen nach etwaigen katalytischen Analogiereaktionen zu fahnden. Zwar ist sicher die einfache Übertragung etwaiger aufzufindender resultatgleicher katalytischer Befunde auf die Fermentvorgänge nicht statthaft. Aber man wird sagen dürfen, daß die Analogiereaktionen, die vermittels der Katalyse zur Beobachtung gelangen, in mancher Beziehung bevorzugt erscheinen müssen, um auf ihren Zusammenhang mit den Fermentprozessen näher untersucht zu werden. Denn die Katalyse ist eine Vorgangsart, die ihrem Wesen nach wie keine andere dem fermentativen Geschehen nahe steht. Sicher verdienen daher solche Reaktionen, die man durch Zusatz von Katalysatoren zum Ablauf bringen kann, eine besondere Untersuchung.

Für die Gärungsvorgänge, deren definitive Einreihung unter die Fermentprozesse den Buchnerschen Entdeckungen zu danken ist, stellt sich daher die Frage zur Beantwortung: Ist es möglich, vom Zucker als Ausgangsmaterial aus mit Hilfe einfacher Katalysatoren zu Abbauprodukten zu gelangen, die mit denen der Gärung, speziell denen der alkoholischen und der Milchsäuregärung vergleichbar sind?

Den einfachsten Fall bietet die Milchsäuregärung: $C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3$. Die Buchnersche „Milchsäurebakterienzymase" wirkt dabei derart auf die Dextrose ein, daß diese eine glatte Spaltung erfährt, bei der die beiden Teilstücke als Milchsäure[1]) auftreten. Aber auch auf rein chemischem, d. h. katalytischem Wege ist Milchsäurebildung aus der Dextrose und anderen Hexosen zu erhalten. Schon F. Hoppe-Seyler[2]) und Kiliani[3]), sowie andere haben die Beobachtung festgelegt, daß die Dextrose unter der Einwirkung des Alkalis Milchsäure ent-

---

[1]) In diesem Zusammenhang, wo es sich vorerst nur um die Annäherungsmöglichkeit der rein chemisch bedingten Vorgänge an die Gärungsprozesse handelt, ist von einer Berücksichtigung des optischen Verhaltens dieser Säure Abstand genommen worden. Betreffs der interessanten Einzelheiten in diesem Punkt möchte ich auf Czapek, Biochemie der Pflanzen **1**, 264 u. 265, 1905, sowie auf Lippmann, Chemie der Zuckerarten **1**, 409 usw., 1904, verweisen.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **4**, 396.

[3]) Ibidem **15**, 701.

stehen läßt. Duclaux[1]) und Schützenberger[2]) ist es sodann unabhängig voneinander gelungen, diese Milchsäurebildung durch die Auswahl geeigneter Reaktionsbedingungen, namentlich durch Steigerung der Hydroxylionenkonzentration, so weit zu treiben, daß die gebildete Menge bis zu 60% vom zersetzten Zucker betrug. Bewiesen die erstgenannten Beobachtungen die rein chemische Entstehungsmöglichkeit der Milchsäure, so lieferte die Tatsache, daß mehr als das halbe Gewicht des Zuckers sich in Milchsäure umzusetzen vermochte, dazu den weiteren Nachweis, daß auch hier ein Spaltungsprozeß des Zuckers vorlag, bei dem jede der entstehenden Hälften als Milchsäure auftreten konnte. Wie ebenfalls schon Wohl in der vorerwähnten Arbeit hervorgehoben hat[3]), darf es daher als feststehend betrachtet werden, daß auch rein chemisch unter der katalytischen Einwirkung des Alkalis aus der Dextrose sich durch Spaltung Milchsäure zu bilden vermag, daß mithin diese Gärungsart des Zuckers eine rein chemische Parallele besitzt.

Anders dagegen scheint es mit der alkoholischen Gärung zu stehen. Hier haben keine Beobachtungen ähnlich eindeutiger Art zur Verfügung gestanden, welche die rein katalytische Reproduzierbarkeit darzutun vermochten. Abgesehen von einigen durch elektrische Wirkungen hervorgebrachten Zersetzungen[4]) findet sich der Alkohol nur bei Duclaux[5]) unter den Produkten der Zuckerzersetzung registriert. Wenn die Dextrose bei Luftabschluß unter dem Einfluß des Sonnenlichtes monatelang bei Zimmertemperatur in alkalischer Lösung der Zersetzung überlassen wurde, so fand sich, wie auch Buchner und Meisenheimer[6]) bestätigen konnten, unter den Produkten Alkohol (3—5%) und Kohlensäure vor. Unter Hinweis auf diese Befunde hat bereits Buchner[7]) anschließend an die bekannten Ausführungen A. Baeyers nachdrücklich die chemisch-energetischen

---

[1]) Compt. rend. soc. biol. **94**, 169.

[2]) Ibidem **76**, 470.

[3]) Diese Zeitschr. **5**, 62, 1907.

[4]) Vgl. Brown, Chem. News **25**, 249; Berthelot, Compt. rend. soc. biol. **87**, 949 u. a.

[5]) Compt. rend. soc. biol. **103**, 882; Annales de l'Inst. Pasteur **10**, 168.

[6]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 422.

[7]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, 39—41.

Verhältnisse des Gärprozesses betont: „Man darf die chemische Leistung bei der Gärung auch nicht überschätzen. Die Festigkeit der Kohlenstoffkette im Traubenzucker ist durch die regelmäßige Anlagerung von Hydroxylgruppen an jedes Kohlenstoffatom wesentlich geschwächt ....“ „Wir müssen also nur annehmen, daß die Zymase einen Anstoß zu geben vermag, welcher der Wirkung von Wärme und von wasserentziehenden Mitteln vergleichbar ist ....“ „Wenn wir uns erinnern, daß exothermische Prozesse nur der Auslösung bedürfen[1]), um in Gang zu kommen, so erscheint uns der Gärungsvorgang nur vom menschlichen Standpunkt aus schwierig realisierbar.“

Daß es in der Tat möglich ist, vom Zucker rein anorganisch-katalytisch zu der Endstufe Alkohol + Kohlensäure zu gelangen, mögen die folgenden Ausführungen zeigen.

Schon oben ist bei der Besprechung der Milchsäuregärung diese Säure als ein Produkt der rein chemischen Spaltung des Zuckers unter dem Einfluß des Alkalis charakterisiert worden. Von hier aus aber läßt sich die Brücke zum Alkohol und zur Kohlensäure schlagen. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Milchsäure nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure beim Erwärmen einen weiteren Spaltungsprozeß erleidet[2]): es entsteht aus ihr Acetaldehyd und Ameisensäure nach der Gleichung: $CH_3CHO / HCOOH = CH_3CHO + HCOOH$. Auch diese Reaktion ist fraglos nach der Ostwaldschen Definition eine katalytische; die Schwefelsäure beschleunigt den Zersetzungprozeß der Milchsäure, sie geht dabei aber nicht in die Endprodukte über, sondern verbleibt unverbraucht und unverändert im Rückstand. Acetaldehyd und Ameisensäure stellen aber, wie ich in einer früheren Arbeit[3]) nachgewiesen habe, eine Vorstufe zu Alkohol und Kohlen-

---

[1]) Natürlich ist mit dem Freiwerden von Wärme bei dem Ablauf eines Prozesses nur eine der möglichen Formen des Abfalles der freien Energie bezeichnet; strenge genommen, sollte daher die Ausdrucksweise hier eine allgemeinere sein, auch entspricht das Bild der „Auslösung“ nicht eigentlich der Wirkung eines Ferments oder Katalysators (Anm. des Verf.).

[2]) Vgl. Beilstein (unter Milchsäure).

[3]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 17—19. — Die hier angezogene Arbeit des Titels „Über die Vergärung des Zuckers ohne Enzyme“ hat in derselben Zeitschrift, **60**, 510, eine sehr wesentliche Berichtigung und einen Nachtrag erfahren. Die von den Herren Prof. E. Buchner und Dr. J. Meisenheimer in dankenswerter Weise angestellten Nach-

säure dar, sie vermögen sich unter der katalytischen Einwirkung des Rhodiums so gut wie quantitativ in Alkohol und Kohlensäure umzusetzen.

Merkwürdigerweise ist die Frage, ob sich Acetaldehyd und Ameisensäure in Alkohol und Kohlensäure überführen lassen, wie es scheint, nirgendwo in der Literatur ventiliert worden. Und doch ist die Möglichkeit theoretisch naheliegend, daß die genannte Umwandlung stattfindet, daß die Ameisensäure sich in Kohlensäure und Wasserstoff spaltet und der dabei frei werdende Wasserstoff „in statu nascendi" den Aldehyd zu Alkohol reduziert nach der Gleichung: $CH_3CHO + HCOOH = CH_3CH_2OH + CO_2$ .

Meine früheren Versuche[1]) haben dies experimentell bewiesen. Die Reaktion ließ sich bei Gegenwart von Rhodiummohr, welches nach Debray und Deville[2]), sowie nach Hoppe-Seyler[3]) katalytisch die Ameisensäure in die gewünschten Komponenten spaltet, in glatter und so gut wie quantitativer Weise erzielen, vorausgesetzt, daß es sich dabei um Rhodium handelt, welches, wie es bei meinen Arbeiten erst nach längerem Probieren und erheblichen Schwierigkeiten der Fall war, genügend energisch die Zersetzungsreaktion der Ameisensäure katalysiert.

Wir sehen somit, wie unter fortgesetzter, ausgewählter katalytischer Beeinflussung der Zucker (Dextrose) sich rein chemisch bis zu Alkohol und Kohlensäure abbaut über die Stufen[4]):

---

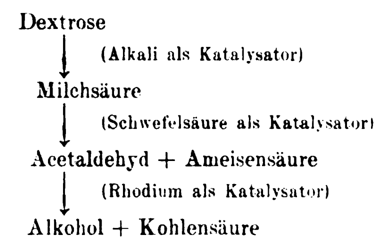
prüfungen meiner Versuche hatten „ausschließlich betreffs der ersten Phase" des von mir angegebenen Vorganges (direkte Spaltung der Dextrose in Acetaldehyd + Ameisensäure) zur Aufdeckung sehr wichtiger Fehler geführt, wie bereits in den Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 4218 von E. Buchner, J. Meisenheimer und mir veröffentlicht werden konnte. — Nicht aber ist damit, wie A. Wohl (diese Zeitschr. **5**, 58, 1907) angenommen zu haben scheint, die ganze Arbeit hinfällig geworden.

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 17—19. Beachte dabei Anm. 3 auf der vorigen Seite.

[2]) Compt. rend. soc. biol. **78**, 1782.

[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **16**, 117.

[4]) Da katalytische Prozesse als freiwillig verlaufende Vorgänge stets mit einem Abfall freier Energie verbunden sind, so erledigen sich durch die hier gemachten Befunde die von A. Wohl (diese Zeitschr. **5**, 60—63, 1907) theoretisch erhobenen Bedenken gegen die Möglichkeit der freiwilligen Umwandlung der Milchsäure zu Alkohol + Kohlensäure. Der Widerspruch, in dem scheinbar meine Versuche mit den von Wohl angestellten Berechnungen stehen, erklärt sich dadurch, daß für den freiwilligen Eintritt




**Es darf somit der Nachweis als erbracht gelten, daß auch rein chemisch, d. h. bei Ersatz der Gärungsfermente durch anorganische Katalysatoren, aus dem Zucker die gleichen Endprodukte Alkohol und Kohlensäure erhalten werden können, die bislang als für den Vorgang der Gärung, als für die Tätigkeit der Fermente spezifisch angesehen wurden.**

Zugleich aber ist mit diesem Schema des katalytischen Zuckerabbaues auch für die biologischen Vorgänge ein zunächst als möglich erscheinendes Paradigma gegeben, dessen Anwendbarkeit zu prüfen Aufgabe der hier folgenden Untersuchung sein soll.

Im Gegensatz zu einer erst kürzlich von W. Loeb[1]) gegebenen, rein chemisch betrachtet an sich wohl möglichen Auffassung, nach welcher der Gärungsvorgang in einer primären Entpolymerisierung ($C_6H_{12}O_6 = 6\,(CO + H_2)$) und einer darauf folgenden Synthese bestehen soll, lassen die vom katalytischen Zuckerabbau eingeschlagenen Wege schon bei erster Betrachtung eine gewisse Verwandtschaft mit den auf Grund des biologischen Beobachtungsmaterials aufgestellten Theorien erkennen: Am nächsten stehen die katalytischen Befunde der von Buchner und Meisenheimer[2]) und anderen vertretenen Auffassung, nach welcher „unter dem Sammelbegriff der Zymase die beiden Stoffe zusammengefaßt sind, die bei der alkoholischen Gärung des Zuckers eine Rolle spielen, nämlich das Enzym, welches speziell

---

eines Vorganges die Wärmetönung allein nicht bestimmend ist, daß sie vielmehr nur einen der für die Gesamtenergiemenge in Betracht kommenden Faktoren darstellt, der, wie schon die Reversibilität der Katalyse beweist, auch bei freiwilligen Prozessen sehr wohl ein negatives Vorzeichen annehmen kann.

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **1907**, Nr. 32, 511 usw.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 621, 1905. Oben zitiert nach: dieser Zeitschr. **4**, 215, 1907, Anm. 2.

Hefenzymase genannt wurde und den Zucker in Milchsäure spaltet, und die Lactacidase, die Milchsäure in Alkohol und Kohlendioxyd zerlegt".

Bevor wir der Frage näher treten, ob und inwieweit die von mir charakterisierte katalytische Entstehung des Alkohols geeignet ist, eine Parallele zur alkoholischen Gärung abzugeben, sei ausdrücklich betont, daß an einen Vergleich der fermentativ wirkenden Hefesubstanzen mit den oben genannten ihrem ganzen Wesen nach durchaus unphysiologischen Katalysatoren nicht gedacht wird, daß vielmehr einzig und allein die Wege, auf welchen der Abbau des Zuckers unter beiderlei Beeinflussung vor sich geht, den Gegenstand einer Vergleichung bilden können. Für eine derartig beschränkte vergleichende Untersuchung darf aber der unphysiologische Charakter der Katalysatoren nicht als Gegenargument angeführt werden. Wissen wir doch u. a. für zahlreiche Fermentvorgänge, zumal für solche hydrolytischer Art[1]), daß ihnen analoge Erscheinungen auch durch starke Säuren oder ähnlich unphysiologische Katalysatoren zuwege gebracht werden können. Außerdem wird man es zum mindesten als möglich zugeben müssen, daß bei weiterem Ausbau dieser Untersuchungen die bislang als wirksam erkannten Katalysatoren durch andere, den physiologischen Verhältnissen besser entsprechende ersetzt werden könnten.

Wie ich andern Ortes[2]) bereits ausführen konnte, tritt nun eine Beziehung der katalytischen Vorgänge zum Chemismus bei der alkoholischen Gärung in den folgenden Punkten zutage:

1. In beiden Fällen handelt es sich um eine beschleunigte chemische Zersetzung des Zuckers, bei welcher die Endprodukte Alkohol und Kohlensäure entsprechend der Gleichung Zucker $= 2$ (Alkohol $+ CO_2$) auftreten. Die treibende Kraft ist für beide Vorgangsarten identisch, es ist das höhere chemische Potential des Zuckers gegenüber der Stufe Alkohol $+ CO_2$. Die Beschleunigung wird auf der einen Seite durch die Zymase (resp. deren beide Teilfermente, die Zymase im engeren Sinne und die Lactacidase; Buchner und Meisenheimer s. o.) erreicht, auf der

---

[1]) Vgl. u. a. die einleitend von mir gegebene Zusammenstellung. — Über die Wichtigkeit hydrolytischer Erscheinungen bei den Gärungsprozessen siehe besonders A. Wohl, diese Zeitschr. **5**, 45 usw.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 36–41.

andern Seite durch die Kombination mehrerer (ebenfalls zeitlich nacheinander einwirkender) Katalysatoren, der OH-Ionen, der Schwefelsäure und des Rhodiums.

2. In beiden Fällen besteht der Abbauprozeß des Zuckers in einer reinen Spaltung; insbesondere ist der Vorgang beide Male nicht an die Mitbeteiligung des Sauerstoffes gebunden.

3. Die bei dem katalytischen Zuckerabbau in den Vorstufen auftretenden Substanzen, die Milchsäure, der Acetaldehyd und die Ameisensäure finden sich bei der alkoholischen Gärung als häufige „Nebenprodukte" wieder. Dabei sind die näheren Bedingungen des Auftretens der Milchsäure derartig, daß man sich bei der Gärung (s. o.) veranlaßt gesehen hat, sie als Zwischenprodukte zu betrachten, eine Stelle, die sie ebenfalls bei der obigen katalytischen Zersetzung inne hat. Auch für die Ameisensäure liegen bei der alkoholischen Gärung Beobachtungen vor, die in ihrer Eigenart an das katalytisch bedingte Auftreten dieser Säure in der Vorstufe zu Alkohol + $CO_2$ erinnern lassen: Wie u. a. P. Thomas[1]) festgestellt hat, läßt sich die alkoholische Hefegärung unter dem Einfluß bestimmter Züchtungsbedingungen (Oberflächenkultur, N-reiche Nahrung) dahin modifizieren, daß statt der normalen Gärungsprodukte erhebliche Mengen von Ameisensäure gebildet werden. Zudem verdient es als eine Besonderheit der Hervorhebung, daß bei dem reinsten Verlauf des Gärprozesses, d. h. bei der „zellenfreien" Zymasegärung, wo infolge der Ausschaltung der vital bedingten Nebenprozesse die Zahl der entstehenden „Nebenprodukte" sich ganz außerordentlich (anscheinend bis auf drei) verringert, gerade zwei der genannten katalytischen Produkte, die Milchsäure und die Ameisensäure (daneben noch Essigsäure; s. u.), sich wieder finden (Ahrens[2]), Buchner[3])).

4. Beiden Vorgangsarten ist der Umstand gemeinsam, daß bei ihnen die OH-Ionen beschleunigende Wirkungen ausüben. Denn nicht nur bei der rein chemischen Zersetzung sind sie für den ersten Teilvorgang die Katalysatoren; auch die Wirkung der Zymase ist in alkalischen Medien gesteigert. So fand Buchner[4]), daß die Gärwirkung der Zymase durch Zusatz schwach

---

[1]) Compt. rend. soc. biol. **136,** 1015.

[2]) Zeitschr. f. angew. Chem. **1900,** 483.

[3]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903. 224

[4]) Ibidem 144.

alkalischer Salze ganz außerordentlich erhöht werden konnte, z. B. durch Zusatz von 2% sekundärem Natriumphosphat um volle 70% des ursprünglichen Betrages. Wenn auch eine derartige Erscheinung nicht einer eindeutigen Erklärung zugängig ist, so halte ich es doch in Analogie zu ähnlichen Fällen (vgl. die Steigerung der $H_2O_2$-Zersetzung bei der „Hämase" Senters durch die OH-Ionen[1]) oder die Steigerung der Diastasewirkung durch geringe Mengen von Säuren[2])) für möglich, daß auch hier in der gleichsinnigen Einwirkung von Enzym und Alkali eine der Ursachen für die Steigerung zu suchen ist, indem entsprechend einer schon von Buchner[3]) geäußerten Vermutung „die Bedeutung des Alkalis für die Gärwirkung in einer Erleichterung des chemischen Vorganges des Zuckerzerfalles beruht".

5. Der Prozeß der rein chemischen Alkoholbildung enthält als einen Teilvorgang eine Reduktion, die Überführung des Aldehyds in Alkohol. Es ist nun auffallend, daß auch der Hefepreßsaft regelmäßig ein Enzym einschließt, welches, wie sich z. B. durch seine entfärbende Wirkung auf Methylenblau zeigen läßt, energische Reduktionsprozesse katalysiert. Diesem Befund dürfte aber insofern ein wesentlich erhöhtes Interesse zukommen, als von M. Hahn[4]) erwiesen ist, daß jene „Reductase" mit der Zymase in einer besonders nahen Beziehung steht. Während andere der mit der Zymase vergesellschafteten Enzyme, z. B. die Endotryptase, hinsichtlich des Grades ihrer jeweiligen Fermentintensität von der Höhe des Gärvermögens der Zymase unabhängig sind, resp. sich sogar in gegensätzlicher Beziehung befinden, sind die Schwankungen der Reductasewirkung gleichsinnig denen der Gärungswirkung. „Es sinkt[4]) bei Aufbewahrung des Preßsaftes in Eis die Gärwirkung vollkommen parallel der Reduktionswirkung ab:

| | 20 ccm Preßsaft + 4 g Rohrzucker bilden $CO_2$ in 24 Std. | 10 ccm Preßsaft reduzieren 0,5 ccm 1 proz. Metylenblaulösung in: |
|---|---|---|
| Preßsaft frisch | 0,503 | 2 Minuten |
| „ 24 Std. alt | 0,201 | 4 „ |
| „ 48 „ „ | 0,093 | 6 „ |
| „ 72 „ „ | 0,071 | 20 „ |

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **50**, 680.

[2]) Literatur vgl. C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen **1903**, 206, 226 usw.

[3]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903, 144.

[4]) Zit. nach ibidem 347, 348.

„Wie man sieht, ist hier nach 72 Stunden ein fast vollkommenes Sistieren der Gärungswirkung erfolgt; gleichzeitig ist aber auch die Reduktionszeit des Preßsaftes so verlängert, wie sie sonst nur bei erhitztem Preßsaft beobachtet wird ..." „Solche Trockenpräparate, die beim Lagern ihre Gärkraft verloren hatten, wirkten auch nicht mehr reduzierend ..." „Die begünstigende Wirkung, welche die Suspension in Bouillon auf die Reduktion der Dauerhefe ausübt, tritt auch bei der Gärung hervor." „Es soll hierdurch nicht etwa bewiesen werden, daß Gärung und Reduktion durch das gleiche Enzym hervorgerufen wird. Aber die Tatsache, daß die beiden Erscheinungen augenscheinlich durch dieselben Momente beeinflußt werden, legt jedenfalls den Gedanken sehr nahe, daß auch die Reduktion, ebenso wie die Gärung, durch die Zymase hervorgerufen wird, auf der Wirkung eines enzymartigen Körpers beruht, der für gewöhnlich in der Leibessubstanz der Zellen eingeschlossen ist."

6. Beide Vorgänge zeigen ein vergleichbares Verhalten dem Schwefel gegenüber. Hefe resp. Hefepreßsaft vermag, mit Schwefelblume oder Natriumthiosulfat verrührt, $SH_2$ zu entwickeln[1]), ferner hat Rubner[2]) unter ähnlichen Bedingungen das Auftreten von Mercaptan gefunden. Auch bei dem rein chemischen Zuckerabbauprozeß auf seiner letzten Stufe konnte ich Ähnliches beobachten. Wurde Schwefel oder Natriumsulfit zu der rhodiumhaltigen Aldehyd-Ameisensäuremischung zugegeben, so erfolgte ebenfalls eine Einbeziehung des Schwefels in die Reaktion; es entstanden Reduktionsprodukte: Schwefelwasserstoff entwich und daneben trat ein intensiver sulfinartiger Geruch auf.

7. Eine letzte, aber besonders interessante Parallele der beiden Vorgänge scheint mir schließlich noch die jüngst von F. Ehrlich[3]) aufgefundene Vergärbarkeit der Aminosäuren zu bieten. Dieser Vorgang, der ebenfalls zur Bildung von Alkoholen führt, entspricht der Bruttogleichung:

$$X \cdot CHNH_2 \cdot COOH + H_2O = X \cdot CH_2OH + CO_2 + NH_3 .$$

Zur Erklärung dieser Reaktion wird es nun von Ehrlich als eine „Möglichkeit, die gerade die Entstehung gewisser Nebenprodukte

[1]) Vgl. E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903, 342, 343.

[2]) Arch. f. Hygiene **19**, 136.

[3]) Zeitschr. d. Ver. d. d. Zuckerindustrie **55**, 592; diese Zeitschr. **1**, 31.

bei der Gärung erklären würde", bezeichnet, daß sich zunächst unter Freiwerden von Ammoniak die entsprechende Oxysäure bildet, und daß diese sich dann, in Analogie zum Spaltungsprozeß der Milchsäure in Aldehyd und Ameisensäure, weiter zerlegt:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH + H_2O = \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2\, CHOH \cdot COOH + NH_3.$$

Amidosäure (Leucin) ⟶ Oxysäure (Leucinsäure)

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2\, CHO \,\vdots\, H \cdot COOH = \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH \cdot CH_2\, CHO + HCOOH.$$

Leucinsäure ⟶ Isovaleraldehyd + Ameisensäure

Die Bildung von Isovaleraldehyd aus Leucin haben in der Tat schon vor Jahren Neuberg und Blumenthal[1]) bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd und Eisensalzen als Katalysator beobachtet.

Die Annahme von Ehrlich, nach der sodann durch die Reductase der Hefe die Überführung des Aldehyds in den Alkohol und durch die Oxydase der Hefe die Umbildung der Ameisensäure in Kohlensäure erfolgen würde, bietet eine weitgehende Analogie zu den Vorgängen, die den letzten Teilprozeß der katalytischen Entstehung des Alkohols ausmachen. Bei Acceptierung dieser Auffassung, die wegen des oben gezeigten leichten Eintritts der erforderlichen Umsetzung zwischen dem Aldehyd und der Ameisensäure in der hierdurch gegebenen Modifizierung noch an Wahrscheinlichkeit gewinnt, würde die Verwandtschaft dieses Prozesses mit der alkoholischen Gärung, zugleich aber auch mit dem obigen katalytischen Zuckerabbau gegeben sein.

Die Gesamtbetrachtung der in den vorstehenden sieben Punkten vorhandenen Beziehungen zwischen dem katalytischen und enzymatischen Abbau des Zuckers zu Alkohol und Kohlensäure umfaßt ein Material von Analogien, welches seinem Umfange, besonders aber seiner Art nach schwerlich einem reinen Spiel des Zufalls zugeschrieben werden kann. Eine Verwandtschaft zwischen der Wirkung der Katalysatoren und der Enzyme wird daher ebenso wie für andere Gebiete so auch für die alkoholische Gärung gelten dürfen. Allerdings ist es zurzeit noch nicht möglich, hier im einzelnen die Grenzen abzustecken; dieses wichtige Ziel wird erst erreicht werden können, wenn durch ein systematisches Handinhandgehen von katalytisch-chemischen

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 238, 1902.

Versuchen und von Enzymforschungen die zahlreichen sich hier aufdrängenden Einzelfragen ihre experimentelle Beantwortung gefunden haben.

Je schwieriger eine solche Doppelforschung ist, um so nötiger wird es sein, die Handhaben, welche uns das katalytische Parallelstudium bietet, in ihrem vollen Umfange auszunutzen. Hier bedarf vor allem der erste Teilvorgang jenes Zuckerabbauprozesses, die Spaltung des Zuckers in Milchsäure, noch eines näheren Eingehens. Denn wenn oben diese Säure schlechthin als das Spaltprodukt des Zuckers unter der Einwirkung des Alkalis genannt wurde, so ist damit der Kompliziertheit jenes Prozesses nicht Rechnung getragen. Es ist nachzuholen, daß dem Entstehen der Milchsäure eine mehr oder weniger verwickelte Umlagerung des Zuckermoleküls und auch der Spaltstücke vorausgeht.

In erster Linie ist auf die intramolekularen Umlagerungen Rücksicht zu nehmen, wie sie Lobry de Bruyn und van Ekenstein[1]) an den verschiedenen Zuckerarten aufgefunden haben. Wir wissen, daß der Einfluß der Hydroxylionen verschiedene nahe verwandte Aldosen und Ketosen ineinander überzuführen vermag. Speziell für die Dextrose, Fructose und Mannose ist es bekannt, daß sie sich in alkalischen Lösungen wechselseitig ineinander umlagern: Dextrose $\rightleftarrows$ Fructose $\rightleftarrows$ Mannose[2]). Diese Umwandlung geschieht derartig, daß die optische Drehung dabei in allen Fällen gegen 0° zu abnimmt; ein Gleichgewicht im strengen Sinne des Wortes hat bislang jedoch nicht erwiesen werden können. Die Geschwindigkeit, mit der sich diese Umbildung vollzieht, ist eine erhebliche; wie der beigefügte Versuch zeigt, ist sie größer als diejenige des gleichzeitigen Zersetzungsvorganges:

Erwärmt man 20 g Dextroseanhydrid, welches nebst 10 ccm n-KOH zu 500 ccm gelöst ist, auf 63°, so beträgt die Drehung nach 10 Minuten = + 5° 30′, nach 30 Minuten 3° 10′, nach 85 Minuten 1° 50′; schließlich ist $\alpha_D$ + von 46° auf + 0 gesunken, ohne daß mehr als ein ganz geringer Bruchteil des Alkali an organische Säure gebunden wäre[3]).

---

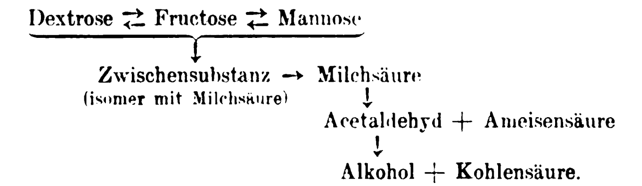
[1]) Recueil des traveaux chim. des Pays Bas. **14**, 156, 203; **16**, 262. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **28**, 3078.

[2]) Strenge genommen ist die Umwandlungsfähigkeit hiermit nicht erschöpfend gekennzeichnet, da neben diesen bei weitem überwiegenden Zuckerarten in geringer Menge noch andere Formen sich finden. Näheres siehe Originalarbeiten, vgl. oben.

[3]) Zit. nach Lippmann, Chem. d. Zuckerarten **1**, 343, 1904.

Es muß demnach angenommen werden, daß derartige Umlagerungsvorgänge auch bei den hier besprochenen Zersetzungen eine Rolle spielen. Zu einem Teile mag sich auf diesem Wege die zersetzungsbeschleunigende Wirkung des Alkalis auf die Dextrose erklären: Es entsteht eben in einem gewissen Anteil aus dieser Aldose die weit reaktionsfähigere Fructose; sie wird von den zur genannten Trias gehörigen Stoffen zweifellos am schnellsten der Zersetzung anheimfallen, und da ihre ständige Nachbildung gesichert ist, erscheint es in hohem Grade wahrscheinlich, daß ein großer Teil der Zerfallsprodukte seinen Weg über diese Stufe (resp. die von Wohl[1]) angegebene Enolform derselben) nimmt.

Aber auch bei Vollzug der Spaltung des Zuckers ist die Milchsäure kaum als das primäre Spaltstück aufzufassen. Für das Vorhandensein einer unbeständigeren Vorstufe (etwa Glycerinaldehyd; Buchner und Meisenheimer[2])) spricht vor allem der Umstand, daß es in alkalischen Zuckerlösungen schon durch so schwache Oxydationsmittel wie Luftsauerstoff oder $H_2O_2$ gelingt, das Entstehen dieser Säure selbst bei sonst ihrer Bildung günstigen Bedingungen auszuschalten[3]). Auch Wohl hat sich für das Auftreten von Zwischenprodukten (Glycerinaldehyd, Methylglyoxal) ausgesprochen[4]). Es ist daher nötig, das oben gegebene Skelett der katalytischen Zuckerzersetzung zu folgendem Schema zu erweitern:




Betrachten wir diesen Gang der katalytischen Zuckerzersetzung, so ist vor allem gegenüber unseren früheren Ausführungen das Hinzukommen einer neuen Reaktionsstufe zu konstatieren. Es zeigt sich, daß die katalytische Zersetzung der Dextrose im

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **33**, 3093.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 4224 (Buchner, Meisenheimer und Schade).

[3]) Ibidem, Buchner und Meisenheimer auf Grund der Versuche von Framm (Arch. f. d. ges. Physiol. **64**, 598 usw.).

[4]) Diese Zeitschr. **5**, 57, 1907.

strengen Sinne nicht lediglich einen Abbau dieser einen Zuckerart darstellt, sondern daß dem Abbauprozeß ein ganz eigentümlicher wechselseitiger Umwandlungsprozeß vorgelagert ist. Unwillkürlich wird man hier an die Cremersche Anschauung[1]) erinnert, nach der es sich bei der Vergärung aller der verschiedenen Zuckerarten, nicht nur der Polysaccharide, sondern auch der Fructose, Mannose, Galaktose usw., in letzter Instanz um die Vergärung ein und desselben Zuckers, wie angenommen wird der Dextrose, handelt. Diese Auffassung ist zwar zurzeit eine reine Hypothese, aber sie verdient, wie besonders auch J. Loeb[2]) auf Grund der Lobry de Bruynschen Arbeiten hervorhebt, sicherlich Beachtung. Denn auch die in jüngster Zeit ausgeführten Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf der Vergärung der Dextrose und der Fructose durch die Zymase sind, wie ich glaube, dieser Auffassung günstig. Wie Buchner[3]) durch eine Reihe vergleichender Messungen sichergestellt hat, werden „auffallenderweise" (Buchner) Dextrose und Fructose trotz ihrer sonst stets verschiedenen Reaktionsfähigkeit[4]) von der Zymase durchaus gleich rasch vergoren. Da ein derartiger Befund nach den Erfahrungen der reaktionskinetischen Untersuchungen mit einiger Bestimmtheit darauf verweist, daß die eigentlich gemessene Reaktion in beiden Fällen die gleiche ist, so verstärkt auch dies die Annahme, daß die Gärung in letzter Instanz von dem gleichen Stoff ausgeht, und daß eben dies gemeinsame Ausgangsprodukt erst durch vorbereitende, unverhältnismäßig viel schneller verlaufende Reaktionen gebildet wird, deren vermutliche zeitliche Differenz in dem Gesamtprozeß nicht mehr merkbar zum Ausdruck kommt.

Diese Annahme ist um so wahrscheinlicher, als bei der Zymasevergärung des Malz- und Rohrzuckers nachgewiesenermaßen die der Gärung vorangehende Hydrolyse und Inversion

[1]) M. Cremer, Zucker und Zelle, Zeitschr. f. Biol. 32, 49, 1895.

[2]) Jacques Loeb, Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen 1906, 52.

[3]) Vgl. E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Zymasegärung 1903, 98—107.

[4]) Bei der cellulären Hefegärung ist ein deutlicher Unterschied zugunsten der Dextrose vorhanden, der nach Buchner mit Wahrscheinlichkeit auf eine Differenz der Diffusionsgeschwindigkeiten der beiden Zuckerarten im Zellprotoplasma resp. in der Zellmembran zurückzuführen ist (vgl. E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn l. c. S. 100).

mit einer solchen Geschwindigkeit verläuft, daß sie bei der zeitlichen Verfolgung der Gesamtreaktion nicht bemerkbar wird; denn wie ebenfalls Buchner[1]) festgestellt hat, vergären auch diese Zuckerarten gleich schnell und beide mit der gleichen Geschwindigkeit wie die Dextrose oder die Fructose. Wenn man auch nach diesen Ergebnissen geneigt sein könnte, sich der Cremerschen Theorie anzuschließen, so wird doch noch die wichtige Frage, welches denn diese im eigentlichen Sinne vergärende Form des Zuckers wäre, offen zu lassen sein. Denn für die Annahme, es sei die Dextrose, liegt kein zwingender Grund vor; mit größerem Rechte könnte, wie mir scheint, die chemisch labilste Zuckerform, die Fructose resp. ihre Enolform (s. o.), diese Sonderstellung beanspruchen.

Auch sonst ist bereits die physikalisch-chemische Betrachtungsart mit Erfolg auf den Gärprozeß übertragen worden. So hat Buchner[2]) bei seiner Beobachtung, daß die Zymase entgegen der lebenden Hefe nicht die Gesamtmenge, sondern nur ca. 85% des ihr dargebotenen Zuckers alkoholisch zu vergären vermochte, an die Zustände vom „falschen Gleichgewicht“ erinnert, wie sie auch für andere Fermentwirkungen von Tammann, Duclaux, Croft Hill usw. festgestellt werden konnten.

Am wertvollsten aber scheint mir die Verfolgung dieses neuen Weges dadurch zu werden, daß er uns zu einer umfassenderen einheitlichen Auffassung der anscheinend so verschiedenartigen Gärungsvorgänge zu führen verspricht. Wie dies zu verstehen, sei im folgenden an einigen der wichtigsten Gärungsarten auszuführen versucht. Ich nenne:

1. Die Milchsäuregärung:
   $C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3$;
2. die alkoholische Gärung:
   $C_6H_{12}O_6 = 2\,(C_2H_5OH + CO_2)$;
3. die Essigsäuregärung
   (als „Oxydationsgärung“ geht sie unter Aufnahme von Sauerstoff vor sich);
4. die Ameisensäuregärung
   (anscheinend eine reine Spaltungsgärung).

---

[1]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903, 98 usw.

[2]) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Zymasegärung 1903, 124—216.

Zunächst gewinnt es den Anschein, als ob bei allen diesen Gärungsarten streng voneinander geschiedene Prozesse vorliegen. Denn für jede dieser Zersetzungen ist es gelungen, ein spezifisches Ferment zu isolieren: Für die Milchsäuregärung die „Milchsäurebakterienzymase" (s. o.), für die alkoholische Gärung die „Zymase" für die Essigsäuregärung die „Alkoholoxydase" (Buchner und Meisenheimer[1])) und schließlich — allerdings am tierischen Gewebe — für die Ameisensäuregärung das „Formizym" (Kobert[2])). Trotz aller Spezifität der jedesmaligen Fermentwirkung kann aber sehr wohl der Gesamtheit der Gärungsvorgänge ein mehr oder weniger einheitlicher Zuckerabbauprozeß zugrunde liegen. Zwar ist es an sich eine Möglichkeit, daß für alle diese Arten der Gärung von Grund aus verschiedene Reaktionswege existieren. Dies ist aber eine unnötig verwickelte Annahme. Einfacher und schon deshalb wahrscheinlicher ist es, daß ein Zusammenhang der einzelnen Prozesse besteht, daß die verschiedenen Arten der Gärung nur die verschiedenen Modifikationen eines mehr oder weniger einheitlichen Abbauprozesses darstellen. Eine derartige Auffassung liegt um so näher, als wir wissen, daß die Fermente als Katalysatoren im weiteren Sinne des Wortes nicht imstande sein können, aus eigener Kraft neue Wege des Abbaus zu schaffen. Vielmehr muß auch der fermentativ-katalytische Zerfall des Zuckers in allen seinen Spielarten an die Richtungen gebunden sein, wie sie durch die chemische Konstitution des Zuckermoleküls und seiner Derivate ein für allemal — unabhängig vom Katalysater — gegeben sind. Wenn wir annehmen, daß der Spaltungsprozeß beim Zucker ein vielartiger resp. vielstufiger ist, so läßt sich die „spezifische" Einwirkung der Fermente unschwer darauf zurückführen, daß diese Fermente nach der Art von Katalysatoren auswählend die eine oder die andere Reaktion beschleunigen und zur vorherrschenden machen.

Wir würden somit bei der Zuckergärung eine Erscheinung vor uns haben, die sich eng an bereits bekannte Erscheinungen anlehnt. So sei an die je nach den Bedingungen des Mediums wechselnde Zerfallsart des Hydroxylamins erinnert, wie sie Tanator[3]) näher untersucht hat, oder an die von Luther und

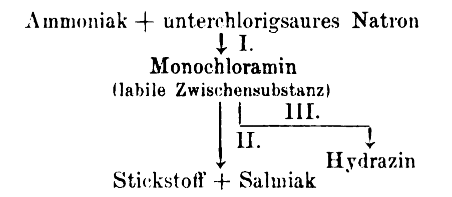
[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 634.

[2]) Biochem. Centralbl. **2**, 37.

[3]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **40**, 475.

**Slator**[1]) **studierte, ebenfalls je nach der Art des Katalysators wechselnde Chlorierungsreaktion des Benzols. Vor allem aber sei hier auf die schönen Versuche von Raschig**[2]) **hingewiesen, weil bei diesen ein in seinem Aufbau der katalytischen Zuckerzersetzung vergleichbar gegliedertes System von Reaktionen in seiner Beeinflußbarkeit durch verschiedenartig wirkende Katalysatoren untersucht ist. Es handelt sich um die Reaktion von Ammoniak mit unterchlorigsaurem Natrium. Seit langem ist bekannt, daß hier eine Umsetzung eintritt nach der Gleichung: $2\,NH_3 + 3\,NaOCl = N_2 + 3\,NaCl + 3\,H_2O$. Diese Reaktion verläuft nun, wie Raschig gezeigt hat, über die unbeständige Zwischenstufe des Monochloramins, wobei die beiden Reaktionsphasen wie folgt zu formulieren sind: 1. $NaOCl + NH_3 = NH_2Cl + NaOH$ und 2. $3\,NH_2Cl + 2\,NH_3 = N_2 + 3\,NH_4Cl$. Mit dem letztgenannten Vorgange konkurriert aber noch eine zweite, für gewöhnlich allerdings nicht merkliche Reaktion unter Bildung von Hydrazin: $NH_2Cl + NH_3 = N_2H_4HCl$.**

**Wir haben somit in gekürzter Wiedergabe folgendes Gerüst von Reaktionen:**




Während im allgemeinen die Reaktion lediglich in der Richtung I und II verläuft, gelingt es unter dem katalytischen Einfluß eines sehr großen Ammoniaküberschusses, die Reaktion merklich in den Weg III der Hydrazinbildung abzulenken. Erhitzen bis zum Kochen läßt unter diesen Umständen die Ausbeute schon bis zu 20—25% der theoretisch möglichen Menge ansteigen, indem offenbar die Reaktionsgeschwindigkeit dieses Prozesses beim Erwärmen schneller zunimmt als diejenige des Vorganges II. Ganz besonders aber ist die Reaktion II dem Einfluß katalytischer

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **45**, 513.

[2]) F. Raschig, Über Monochloramin. Vortrag, gehalten auf der 79. Vers. Deutsch. Naturf. u. Ärzte in Dresden 1907. Zit. nach Ber. d. Chem.-Ztg. (Sonderabdruck 1907).

Substanzen zugänglich. Auf der einen Seite wird sie durch die Anwesenheit sehr kleiner Mengen von Eisen, Kupfer, Blei und besonders von Kobalt stark beschleunigt, so sehr, daß bei Gegenwart solcher Katalysatoren trotz größerer Ammoniaküberschüsse kaum etwas vom Vorgang III bemerkbar bleibt; Aceton als positiver Katalysator läßt sogar schon in wenigen Sekunden die gesamte Umsetzung zu Stickstoff und Salmiak (Weg II) sich vollziehen. Auf der anderen Seite wird durch negative Katalysatoren, anscheinend durch Substanzen, welche die Viscosität des Mediums erhöhen, wie Glycerin, Zucker, Stärke, Dextrin, Leim usw., die Reaktion II verzögert, so daß für den Vorgang III mehr Material übrig bleibt und 40—50%, ja bei starkem Ammoniaküberschuß sogar 60—70—80%, der theoretischen Ausbeute an Hydrazin erhalten werden. Diese Untersuchungen Raschigs zeigen somit in deutlichster Weise, wie bei einem mehrstufigen chemischen Prozeß, selbst bei anfänglich einheitlichem Gange der Reaktion, je nach der Art der einwirkenden Katalysatoren der Vorgang bald in diese, bald in jene Richtung gelenkt und dementsprechend bald zu diesen, bald zu jenen Endprodukten führen kann.

Eine analoge Auffassung der Vorgänge der Gärung liegt nahe. Für dieselbe scheint der Umstand zu sprechen, daß die einzelnen Gärungsformen niemals ganz rein, d. h. ohne „Nebenprodukte" auftreten. Diese „Nebenprodukte", die sowohl bei der cellulären als auch bei den zellenfreien Enzymgärungen mit Regelmäßigkeit nachweisbar sind, bestehen nämlich zu einem nicht geringen Teile aus solchen Substanzen, welche unter geänderten Bedingungen auch ihrerseits als Hauptprodukte erscheinen können[1]). So entsteht bei der Milchsäuregärung u. a. auch Alkohol, bei der alkoholischen Gärung auch Milchsäure, Essigsäure und Ameisensäure, bei der Essigsäuregärung auch Alkohol und bei der Ameisensäuregärung auch Milchsäure, Alkohol usw. usw.[2]).

---

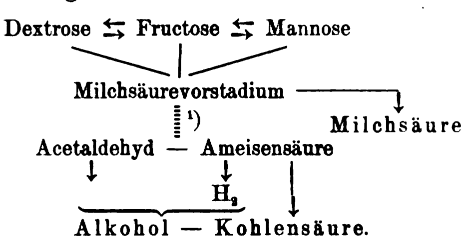
[1]) Es sei bemerkt, daß diese Tatsache bisher stets darauf zurückgeführt worden ist, daß die Isolierung der einzelnen Fermente nicht voll hat erreicht werden können, daß es sich somit um Mischwirkungen von Fermenten gehandelt hat. Diese Erklärung trifft sicher etwas Richtiges; sie soll daher durch die oben gegebene Auffassung nicht umgestoßen, sondern nur ergänzend erweitert werden.

[2]) Vgl. Lippmann, Chem. d. Zuckerarten 1904.

Gerade für das eigenartige Ineinandergreifen und Ineinanderübergehen der einzelnen Gärungsarten darf von den katalytischen Parallelbefunden aus eine Aufklärung erhofft werden. Um die oben angegebene katalytische Zuckerzersetzung, welche entgegen dem kontinuierlichen Ablauf der Gärprozesse wenigstens vorerst nur diskontinuierlich, d. h. unter mehrfachem Wechsel des Mediums verläuft, für die Zwecke eines hypothetischen Gärungsschemas verwertbar zu machen, muß versucht werden, die in der absatzweisen Zersetzung begründeten Mängel der katalytischen Beobachtungen nach Möglichkeit zu eliminieren. Wenn man den Gesamtweg des katalytischen Abbaues vom Zucker bis zur Stufe Alkohol-Kohlensäure übersieht und sich vorzustellen bemüht, daß diese chemischen Umsetzungen sich in einer kontinuierlichen Reaktion vollziehen, so fällt vom rein chemischen Standpunkte eine Unwahrscheinlichkeit in ihnen auf. Wenn die Ostwaldsche Stufenregel von dem Erstentstehen der unbeständigeren Produkte auch nicht die Kraft eines lückenlos geltenden Gesetzes besitzt, so muß es doch bei einem hypothetisch angenommenen kontinuierlichen Ablauf dieses Prozesses als unwahrscheinlich gelten, daß die so beständige Milchsäure den Ausgangsstoff der weiteren Entstehung von Aldehyd-Ameisensäure usw. abgibt. In ähnlichem Sinne sprechen die Beobachtungen der Autoren über die Rolle der Milchsäure bei der Gärung. Auch hier hat es zunächst aus manchen Gründen nahe gelegen, die Milchsäure als die Zwischenstufe zwischen dem Zucker und den Endprodukten Alkohol-Kohlensäure zu betrachten (Buchner und Meisenheimer s. o.), aber das Ergebnis der auf diesen Punkt gerichteten mühevollen Untersuchungen läßt sich meines Erachtens dahin zusammenfassen, daß wohl schwerlich die fertig gebildete Milchsäure das Bindeglied darstellen wird, statt ihrer aber vermutlich eine labile Vorstufe derselben oder, wie gleichbedeutend auch gesagt zu werden pflegt, die „nascierende“ Oxysäure, deren Vergärbarkeit durch die bereits oben erwähnten Versuche von F. Ehrlich auch nach der Ansicht von A. Wohl[1]) wahrscheinlich gemacht ist. In Anlehnung an diese Verhältnisse will es mir daher erlaubt erscheinen, auch bei dem katalytischen Zersetzungsschema — lediglich für die theoretische Vergleichung

[1]) Diese Zeitschr. 5. 63. 1907.

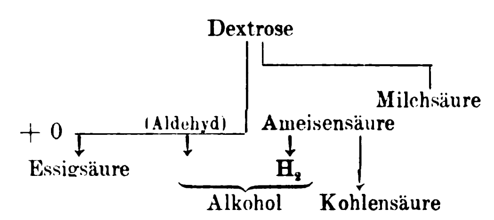
mit den Gärungsvorgängen — die entsprechende Modifizierung vorzunehmen, d. h. die Zersetzung zu Aldehyd-Ameisensäure statt aus der fertig gebildeten Milchsäure aus dem nachgewiesenermaßen (s. o.) vorhandenen labilen Vorstadium derselben herzuleiten. Mit dem Vorbehalt, daß möglicherweise auch für die Stufe Acetaldehyd-Ameisensäure nahestehende, noch unbekannte labilere Vorstadien einzusetzen sein werden, möchte ich demnach das Schema wie folgt fassen:




Dieses den katalytischen Befunden entlehnte, nur leicht modifizierte Schema scheint mir besonders dadurch Interesse zu verdienen, daß es die Gärungsvorgänge von einer Seite aus kennen lehrt, die eine einheitliche Auffassung des Gesamtproblems ermöglicht. Zunächst zeigt es uns die Milchsäuregärung und die alkoholische Gärung in einer den biologischen Beobachtungen entsprechenden leicht gegensätzlichen Beziehung. Dabei scheint zugleich der eigentümlichen, der Bedeutung eines Zwischenproduktes angenäherten Rolle der Milchsäure bei diesen Gärungen gute Rechnung getragen zu sein. Ebenfalls wäre das Auftreten von Acetaldehyd, Ameisensäure, Wasserstoff als „Nebenprodukt" bei den genannten Gärprozessen leicht verständlich. Besonders aber scheint mir die hier skizzierte Entstehungsweise des Alkohols einen Einblick zu bieten, wie sich die alkoholische Gärung der Hefezellen unter dem Einfluß bestimmter Kulturbedingungen (s. o.) in eine Ameisensäuregärung umzuwandeln vermag. Denn diese Gärung, die bislang abseits zu stehen schien, findet ebenfalls in jenem Gesamtbilde ihren Platz. Ja, es muß als geradezu im höchsten Maße auffallend gelten, wie sehr sich auch

[1] Diese gestrichelte Linie soll die hypothetische Natur dieses direkt vermittelten Spaltprozesses andeuten. Es wird dies nochmals bemerkt, weil ich in einer früheren Arbeit (Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 1) gerade in diesem Punkt mich geirrt habe.

sonst in ihren Einzelheiten diese Gärung dem gegebenen Schema einfügt. Omilianski[1]), welcher den Gärungsprozeß des Bacterium formicicum näher untersuchte, fand hierbei als Produkte: viel Ameisensäure, daneben Alkohol, Milchsäure und Essigsäure; die Ameisensäure zersetzte sich jedoch bald weiter in Wasserstoff und Kohlensäure. Ordnet man die genannten Produkte der Ameisensäuregärung in Anlehnung an die katalytische Zersetzung nach ihrem vermutlichen genetischen Zusammenhang, so ergibt sich ein Schema, welches sich fast in nichts von dem oben aufgestellten Paradigma unterscheidet:




Zugleich aber zeigt diese Aufstellung, daß auch die Essigsäuregärung, bekanntlich eine „Oxydationsgärung", sich mit ihrem Hauptprodukt als einem Derivat des Aldehyds[2]) (eventuell auch des Alkohols) diesen Spaltvorgängen anzugliedern imstande ist. Somit wären sämtliche genannten Gärungsarten des Zuckers mit ihrem Hauptprodukt in einer Stufe dieser Zusammenstellung vertreten. Ja, man kann umgekehrt sagen, daß einer jeden Stufe dieses in Analogie zu den katalytischen Parallelbefunden (auch die Bildung der Essigsäure aus Alkohol durch Luftsauerstoff läßt sich bekanntlich durch Platinmohr katalytisch erreichen!) zergliederten Gesamtprozesses eine spezielle Gärungsform entspricht: Wir haben eine Milchsäuregärung, eine Ameisensäuregärung, eine Alkoholgärung und als oxydative Abart eine Essigsäuregärung. Die einzige Form, die zu fehlen scheint, ist die „Aldehydgärung". Aber selbst dieser Stoff tritt bei den ver-

---

[1]) Zitiert nach Lippmann, l. c. II, 1894.

[2]) Bekanntlich sind „Aldehydasen", d. h. Oxydationsfermente für Aldehyde, in der organisierten Materie, speziell in den tierischen Geweben, sehr verbreitet (vgl. C. Oppenheimer, Die Fermente, Leipzig 1903, 346 usw.); sie oxydieren Aldehyde, aber unter Umständen auch Alkohole (Methylalkohol, Salkowski), sie scheinen daher der „Alkoholoxydase" (Buchner und Meisenheimer s. o.) nahe zu stehen.

schiedensten Arten der Gärung (Alkoholgärung[1]), Milchsäuregärung[2]) usw.) als ein „Nebenprodukt" auf. Kleine Mengen dieser Substanz pflegen so gut wie regelmäßig den Gärungsprozeß zu begleiten; ja bei einigen Gärungserregern, z. B. Monica albicans (Linossier[3])), Bac. suaveolus (Sclavo und Gossio[4])) und Amylobacter. aethylicus (Duclaux[5])), erscheint sogar der Acetaldehyd als eines der wesentlichsten Produkte. Da man jedoch gewöhnt ist, ihn als ein sekundäres Umwandlungsprodukt des Alkohols, d. h. als eine nachträglich unter dem Einfluß des Luftsauerstoffes aus dem Alkohol hervorgegangene Substanz zu betrachten, so hat man diesem Stoffe eine nur geringe Aufmerksamkeit zugewandt. Ob aber diese Auffassung die richtige ist, oder ob nicht vielmehr, wie schon Schützenberger und Destrem[6]) und andere auf Grund von Gärversuchen bei Sauerstoffabschluß angenommen haben, der hier gefundene Aldehyd ein wahres Gärungsprodukt darstellt, muß unentschieden bleiben. Jedenfalls aber ist es wichtig zu betonen, daß dieser Vorgang nicht lediglich vom Standpunkt der alkoholischen Gärung aus zu betrachten ist, sondern von allgemeineren Gesichtspunkten, wie sie der Vergleich mit den katalytischen Parallelvorgängen nahe legt.

Für das Bestehen einer derartigen Einheitlichkeit des gesamten Gärungschemismus sprechen auch die Befunde, welche mit glykolytischen Preßsäften aus pflanzlichen oder tierischen Geweben erhalten wurden. Die Kenntnis der dabei entstehenden Produkte verdanken wir vor allem Stoklasa und seinen Schülern[7]). Bei Abschluß von Luft erhielten diese Autoren aus der Dextrose sowohl wie aus der Fructose in energisch einsetzender Reaktion Alkohol und Kohlensäure, und zwar diese in dem für die Gärung

---

[1]) Vgl. Lippmann l. c., **1**, 381.

[2]) Vgl. ibidem, **1**, 414 usw.

[3]) Bull. de la soc. chim. **3**, 4, 697.

[4]) Chem. Centralbl. **91**, b, 253.

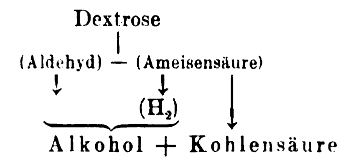
[5]) Ibidem **96**, 122.

[6]) Jahresber. d. Chem. **1879**, 1007.

[7]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 460 (Stoklasa, Jelinek, Viteck); Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 4058 (Stoklasa, Cerny); **38**, 644 (Stoklasa); Arch. f. d. ges. Physiol. **101**, 311 (Stoklasa); Centralbl. f. Physiol. **16**, 712; **17**, 465, ebenda **17**, 1 (Simacek); Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 303 (Stoklasa, Ernest, Chocensky); **51**, 156 (dieselben).

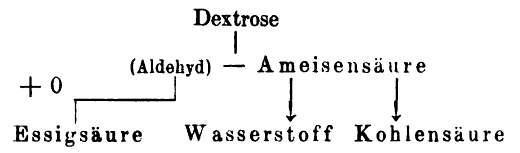
charakteristischen Mengenverhältnis; mit andern Gewebspreßsäften sahen sie auch Milchsäure in ziemlich beträchtlicher Menge aus dem Zucker entstehen. Diese fermenhaltigen Preßsäfte der tierischen und pflanzlichen Gewebe wirken aber nicht in der von der Zymase her bekannten Weise im Sinne einer einzelnen Gärungsart streng spezifisch, sie können vielmehr bei geänderten Bedingungen, so namentlich bei Luftzutritt statt des Alkohols und der Kohlensäure auch andere Endprodukte entstehen lassen. Stoklasa schreibt darüber wie folgt[1]: „Durch unsere weiteren Forschungen ist es uns gelungen, den Nachweis zu erbringen, daß der Abbau der Kohlehydrate mit der Bildung der Milchsäure und derjenigen des Alkohols und des Kohlendioxyds nicht abgeschlossen ist, sondern daß bei Sauerstoffzutritt auch immer Essigsäure entsteht. Wir haben ferner die Bildung von Ameisensäure nachgewiesen." „Wenn die Gärung — bei vollem Luftzutritt — länger als 24 Stunden dauert, so können wir in dem entwickelten Gase neben Kohlendioxyd auch mit voller Sicherheit Wasserstoff nachweisen." Stoklasa findet also, wie sich zusammenfassend ergibt, bei anärober Versuchsanordnung Alkohol und Kohlensäure, bei Luftzutritt dagegen neben Kohlensäure vorwiegend Essigsäure und Ameisensäure, nach längerer Versuchsdauer auch Wasserstoff. Es ist überraschend zu sehen, wie hier in dem, was bislang am meisten Befremden zu erregen vermocht hat, nämlich gerade in der Ablenkbarkeit des Prozesses von dem Schema der alkoholischen Gärung, sich eine bis ins Detail gehende Anlehnung an die katalytischen Befunde zu erkennen gibt. Die Stoklasaschen Beobachtungen lassen sich nicht nur leicht dem obigen Schema einfügen, sondern sie werden — und das ist die praktische Bedeutung der Vergleichung — als durch sekundäre Einflüsse modifizierte Ablenkungen der alkoholischen Gärung verständlich:

1. Vorgang bei Luftabschluß.




[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38. 644.

2. Vorgang bei Sauerstoffzutritt.




Man hat guten Grund anzunehmen, daß im Stoffwechsel der lebenden tierischen Zelle die alkoholische Gärung keine oder mindestens doch keine erhebliche Rolle spielt. Wenn nun trotzdem die aus solchen Zellen erhaltenen Fermente unter der einen Bedingung des Sauerstoffabschlusses den Zucker alkoholisch vergären, so befindet sich diese Beobachtung mit dem aus dieser Vergleichung abzuleitenden Schluß im Einklang, daß die alkoholische Gärung eine durch bestimmte Bedingungen modifizierte Form des allgemeinen Zuckerabbauschemas darstellt. Für die Mikroorganismen der Hefegruppe, die mit Recht als „Stoffwechselspezialisten" bezeichnet worden sind, wird diese Art des Abbaues zur vorherrschenden; für die Fermente des tierischen Organismus, der entsprechend seinen höheren Aufgaben auf die Ausnutzung der durch die Vielseitigkeit der Zuckerabbaureaktionen gegebenen Vorteile angewiesen ist, stellt sie nur eine der möglichen Reaktionen dar, von der es sogar fraglich ist, ob sie im Leben benutzt wird.

Daß die durch die Katalyse gegebenen Zersetzungsreaktionen des Zuckers geeignet sind, für die Vorgänge der Gärungen im allgemeinen als Parallele zu dienen, und daß sie im einzelnen für manche Eigenarten dieser fermentartigen Prozesse auffällige und weitgehende Analogien bieten, dürfte nach dem vorstehend zusammengestellten Material nicht zweifelhaft erscheinen. Ebenso sicher aber hieße es zu weit gehen, wollte man lediglich auf Grund von Analogien ein Urteil über den Grad des Zusammengehens dieser beiderartigen Vorgänge versuchen. Denn im vorstehenden hat lediglich die eine Seite der vergleichbaren Vorgänge, die Katalyse, eine genügende Würdigung gefunden. Sie ist, obwohl erst in den Anfangsstadien ihrer Entwicklung stehend, zum Ausgangspunkt der Vergleichungen gemacht worden, weil sie auch in ihrer jetzigen Form bereits auf manche Fragen der Gärung neue und wichtige Streiflichter zu werfen vermag. Bis zur Klärung der durch diese Betrachtungsweise geschaffenen Probleme ist,

wie schon oben speziell für die alkoholische Gärung betont werden konnte, noch viel an vergleichender Einzelarbeit zu leisten. Diese Untersuchungsart an sich bietet aber — und das möchte ich als einen ihrer Hauptvorzüge betrachten — die Möglichkeit, auch für die fermentative Forschung zu scharf präzisierbaren experimentellen Aufgaben zu gelangen. Die Ergebnisse derselben werden entscheiden, inwieweit den Analogien eine wahre Übereinstimmung der Tatsachen zugrunde liegt. Über die Berechtigung des Versuches, die Vorgänge der Gärung der Katalyse einzureihen, wird man indes auch jetzt schon nicht im Zweifel sein.

# Über die Bestimmung des Blutzuckers.

Von

**Ivar Bang.**

(Aus dem Physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität zu Lund.)

*(Eingegangen am 4. November 1907).*

In „Festschrift für Olof Hammarsten" habe ich ein Verfahren zur Bestimmung des Blutzuckers publiziert, welches sich auf der Verwendung der Zentrifuge basiert: Das Blut fließt direkt von der Ader in einem mit Alkohol und Zinkacetat beschickten Zentrifugeröhrchen ein, man zentrifugiert, dekantiert, füllt wieder mit Alkohol auf und zentrifugiert nochmals. Diese Prozedur wird zum dritten Male wiederholt. In den vereinigten Filtraten wird das Zink mit Soda niedergeschlagen, man filtriert, konzentriert stark und verfährt übrigens nach Abeles[1]).

Die Verwendung der Zentrifuge stellt eine wesentliche Verkürzung der Methode von Abeles dar. Trotzdem dauert die Prozedur zwei Tage, indem die Flüssigkeit nach dem Zusatz von Soda 24 Stunden stehen muß, und die folgende Filtration geht auch ziemlich langsam vonstatten. Endlich ist es notwendig, nach der Konzentration auf dem Wasserbade das Zinkverfahren zu wiederholen, indem die resultierende Lösung trübe wird und sehr langsam durch das Filter geht.

Ich habe deswegen diese Methode noch weiter zu vereinfachen versucht und habe durch Verwendung des von Rona und Michaelis[2]) empfohlenen Kaolins das Verfahren wesentlich bequemer machen können. Hierbei habe ich nicht die von Rona und Michaelis befolgte Vorschrift: Verdünnung des Blutes mit 12—15 Volumen Wasser, aufgenommen. Hierdurch und dank den notwendigen Auswaschungen des Eiweißniederschlages bekommt man eine große Menge Wasser, dessen Verdampfung viel mehr Zeit fordert als die sonst notwendige Menge Alkohol — etwa 6 Volumen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 495ff.

[2]) Diese Zeitschr. 5, 365 f.

Mein Vorgang ist deswegen folgender:

Ein Zentrifugeröhrchen von ca. 200 ccm Inhalt wird mit 100 ccm Alkohol beschickt und gewogen. Nach dem Zusatz von etwa 30—50 ccm Blut direkt aus der Ader wird wieder gewogen. Man zerteilt die Blutkoageln fein mit dem Glasstabe, spült diesen mit ca. 50 ccm Alkohol ab und zentrifugiert eine Stunde. Die Flüssigkeit wird von dem Rückstand, der fest an dem Röhrchen haftet, abgegossen und das Residuum wieder mit 100 ccm Alkohol zerrührt und zentrifugiert ($^3/_4$ Stunde). Die Flüssigkeit wird abgegossen und der Rückstand zum dritten Male mit 50 ccm Alkohol zerrührt und zentrifugiert ($^1/_2$ Stunde). Die vereinigten Flüssigkeiten werden auf dem Wasserbade bis ca. 10 ccm konzentriert, in einem Meßzylinder übergeführt und auf 30—50 ccm (je nach der Blutmenge und Zuckergehalt) ergänzt. Man setzt 2—3 g Kaolin am besten portionsweise hinzu, schüttelt durch und filtriert.

In dem klaren Filtrate läßt sich der Zucker bequem nach meiner Methode bestimmen.

Nach etwa 3 Stunden ist infolgedessen der Blutzucker zur Titration fertig.

Als Beispiel darf ich folgenden Versuch anführen:

Zwei Proben zuckerfreies Blut à 50 ccm wurden mit 10 ccm einer ca. 0,5 prozentigen Dextroselösung versetzt. In einer dritten Probe wurden 50 ccm Wasser mit derselben Quantität Zuckerlösung versetzt. Der Blutzucker wurde wie oben erwähnt bestimmt.

| | Hydroxylaminlösung | mg Zucker |
|---|---|---|
| Blutprobe I . . . . . | 38,6 ccm | 9,8 |
| Blutprobe II . . . . . | 39,1 „ | 9,3 |
| Kontrollprobe . . . . . | 38,9 „ | 9,5 |

Bei fortgesetzten Untersuchungen hat es sich erwiesen, daß man mit derselben Exaktheit nach diesem Verfahren den Zucker in 10 ccm Blut bestimmen kann. Da man eine solche Blutquantität bequem auch von Menschen entnehmen kann, erlaubt das Verfahren eine allgemeine, klinische Blutzuckerbestimmung bei Diabetikern. Die Lösung wird dann zuletzt auf 20 ccm ergänzt, mit Koalin versetzt und in 10 ccm des Filtrates der Zucker bestimmt.

# Untersuchungen über den Blutzucker.

Von

**Peter Rona und Leonor Michaelis.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

*(Eingegangen am 21. November 1907.)*

Während wir über die Anwendbarkeit der verschiedenen Methoden der Zuckerbestimmung im Blut resp. im Serum gut unterrichtet sind, ist die Frage, ob aller im Blut bestimmbare Zucker im Blut frei gelöst oder in kolloidaler Form als „Transportzucker“ oder als „virtueller“ Zucker oder in einer anderen Bindungsform vorhanden ist, noch im vollen Fluß. Ohne auf die hierhergehörige reiche Literatur näher einzugehen[1]), hoffen wir, im folgenden neue Verfahren zur Bestimmung des Zuckergehaltes im Blut angeben zu können, die nicht nur eine wesentliche Vereinfachung gegenüber den bisher angewandten Methoden, Schnelligkeit und Sicherheit in der Ausführung in sich schließen, sondern auch geeignet sind, soweit die vorliegenden Versuche einen Schluß in dieser Richtung erlauben, gewisse Aufschlüsse in dem Problem der Bindung des Zuckers im Blute zu geben.

Wie wir bereits in einer früheren Mitteilung angegeben haben, ist die von uns ausgearbeitete Enteiweißungsmethode durch Adsorption mit Kaolin[2]) unter anderem auch dann mit Vorteil anwendbar, wenn es sich darum handelt, in eiweißhaltigen Flüssigkeiten, besonders im Blutserum, den Zucker zu bestimmen, da das Kaolin nicht nur aus eiweißfreien, sondern auch aus eiweiß-

---

[1]) Bezüglich der neueren Literatur siehe L. Asher und R. Rosenfeld, diese Zeitschr. **3**, 335; Ed. Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. **117**, 217. — P. Mayer, diese Zeitschr. **4**, 545. Ferner die Arbeiten von Lépine und Boulud, Compt. rend. **133**, 138; **134**, 398; **143**, 539.

[2]) Vgl. diese Zeitschr. **3**, 109.

haltigen Zuckerlösungen von dem Zucker nichts adsorbiert. Für eiweißfreie Zuckerlösungen zeigen dies die folgenden Versuche, die mit dem gleichen Resultat noch vielfach wiederholt wurden.

1. Traubenzuckerlösung schwach mit Essigsäure angesäuert, dreht im 2 dcm-Rohr 1,42°; nach Schütteln der Lösung (25 g Kaolin auf 100 ccm Flüssigkeit) ist die Drehung: 1,43°.
2. Traubenzuckerlösung schwach mit Essigsäure angesäuert, dreht im 2 dcm-Rohr 1,52°; nach Schütteln der Lösung mit Kaolin (40 g auf 100 ccm Flüssigkeit) betrug die Drehung 1,52°.
3. 0,1 g Traubenzucker wurden in 550 ccm Wasser gelöst, mit 20 Tropfen Essigsäure und 140 g Kaolin, wie oben, versetzt, filtriert (410 ccm), das Filtrat auf 15 ccm eingeengt. Drehung im Zuckerrohr 0,49°. Entspricht 0,0986 g Zucker.

Um eiweißhaltige Zuckerlösungen daraufhin zu prüfen, ob sie etwas von ihrem Zuckergehalt an das Kaolin abgeben, versetzten wir altes, unter Chloroform aufbewahrtes, fast zuckerfreies Pferdeserum, dessen Zuckergehalt vorher bestimmt wurde, mit Zuckermengen, die ungefähr dem Zuckergehalt des frischen Blutes entsprachen, und prüften, ob wir die zu erwartende Zuckermenge nach der Enteiweißung wieder fanden.

Das Verfahren gestaltet sich dabei folgendermaßen:

50 ccm Blutplasma oder Blutserum werden mit der 15fachen Menge Wasser versetzt, mit Essigsäure schwach angesäuert (etwa so weit, bis die anfänglich entstehende Trübung sich wieder aufzuhellen beginnt). Zu der Flüssigkeit, deren Volumen genau festgestellt wird, fügt man dann auf je 100 ccm Flüssigkeit 20—25 g Kaolin in kleinen Portionen unter stetem Umschütteln hinzu. Nach Hinzufügen der gesamten Kaolinmenge kann alsbald abgenutscht werden; die Flüssigkeit filtriert leicht und völlig klar. Spuren von Kaolin, die eventuell anfänglich mit durchgehen, werden am besten erst nach dem Einengen des Filtrats durch Filtrieren entfernt. Man nutscht so weit wie möglich ab, notiert das Volumen des Filtrats, das gewöhnlich vier Fünftel der Gesamtflüssigkeit beträgt. Da die Konzentration des Filtrates genau die gleiche wie die der im Kaolin zurückbleibenden Flüssigkeit ist, kann die gefundene Zuckermenge auf die Gesamtflüssigkeit umgerechnet werden. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad bis zur geeigneten Konzentration eingeengt und dann der Traubenzucker

entweder nach Allihn mittels Reduktion und Wägung des durch Reduktion des CuO gewonnenen Kupfers oder polarimetrisch bestimmt. Als Polarisationsapparat stand uns ein sehr empfindlicher Apparat von Schmidt & Haensch mit dreiteiligem Gesichtsfeld zur Verfügung.

Auf diese Weise fanden wir, daß der zum Serum künstlich zugesetzte Zucker quantitativ wiedergefunden wird.

4. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Traubenzucker werden auf 1000 ccm aufgefüllt, mit 20 gtts. Essigsäure und 200 g Kaolin versetzt, abgesaugt (894 ccm), eingeengt, der Zucker mittels Reduktion bestimmt. Gefunden 0,121 g Zucker, davon ab 0,025 g = **0,096** g Zucker.
5. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Traubenzucker werden auf 1000 ccm aufgefüllt, mit 20 gtts. Essigsäure und 250 g Kaolin versetzt, abgesaugt (860 ccm), eingeengt, der Zucker mittels Reduktion bestimmt. Gefunden 0,125 g, davon ab 0,025 g = **0,100** g Zucker.
6. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Traubenzucker + 550 ccm Wasser + 20 gtts. Essigsäure + 190 g Kaolin wird abgesaugt (450 ccm), eingeengt auf 115 ccm, mit 20 g Kaolin geschüttelt, abgesaugt (100 ccm), eingeengt auf 13,7 ccm. Dreht (im Zuckerrohr) 0,595° = 0,595% Zucker, entsprechen 0,25%, davon ab 0,05%, bleiben **0,2** % Zucker.
7. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,2 g Traubenzucker, auf 1000 ccm aufgefüllt, + 20 gtts. Essigsäure und 200 g Kaolin, abgesaugt (870 ccm), eingeengt auf 20 ccm. Drehung (im Zuckerrohr) 1,04°, entspricht 1,04%; mittels Reduktion gefunden 1,01%. Im Serum demnach **0,48** % bzw. **0,46** % (statt 0,45 %).
8. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05 % Zucker) + 0,1 g Traubenzucker, auf 1000 ccm aufgefüllt, + 20 gtts. Essigsäure + 200 g Kaolin, abgesaugt (880 ccm), eingeengt auf 18 ccm. Drehung (im Zuckerrohr) 0,56° = 0,56% Zucker, d. h. im Serum 0,23% Zucker; mittels Reduktion gefunden 0,23%. Abzüglich 0,05% = **0,18**% Zucker (statt 0,2%).

Aber nicht nur im Kaolin, sondern auch im kolloidalen Eisenhydroxyd, das im Gegensatz zum Kaolin ein elektropositives Kolloid ist, besitzen wir ein vortreffliches Enteiweißungsmittel, das mit jenem die Eigenschaft teilt, den Traubenzucker weder in eiweißfreier noch in eiweißhaltiger Lösung zu adsorbieren. Für eiweißfreie Lösungen zeigen dies die folgenden Versuche.

9. Reine Traubenzuckerlösung dreht 1,19°. — 100 ccm dieser Lösung mit 5 ccm Ferr. oxyd. dial. versetzt, mit ca. 9 g ClNa ausgeflockt, abfiltriert; dreht 1,08° (berechnet 1,09°).

10. Reine Traubenzuckerlösung dreht 1,06°. — 100 ccm dieser Lösung + 5 ccm Ferr. oxyd. dial. versetzt, mit ca. 7 g ClNa ausgeflockt, abfiltriert, dreht 0,97° (berechnet 0,98°).
11. 100 ccm Traubenzuckerlösung + 5 ccm Ferr. oxyd. dial. versetzt und mit 5 ccm 10% $MgSO_4$ ausgeflockt. Dreht vorher 1,06°, nachher 0,95° (berechnet 0,96°).

Die Enteiweißung frischen Blutserums mit dem kolloidalen Eisenhydroxyd geschah folgendermaßen: 50 ccm Serum oder Plasma werden auf das 10—12fache verdünnt und mit 40 ccm Ferr. oxyd. dial. tropfenweise unter lebhaftem Umschütteln versetzt. Damit ist das Enteiweißen vollendet. Die wasserklare, eiweiß- und eisenfreie Flüssigkeit kann sofort abfiltriert werden. Da das kathodische Eisenhydroxyd die Farbstoffe gleichzeitig vollständig mitreißt, kann die Flüssigkeit (bei schwach saurer Reaktion) bis auf 10—15 ccm eingeengt werden, ohne sich im geringsten Maße zu trüben oder sich dunkler zu färben, und ist daher zum Polarisieren vortrefflich geeignet. Einhaltung der angegebenen Mengenverhältnisse ist übrigens zum guten Gelingen der Enteiweißung durchaus erforderlich, anders wie bei der Kaolinmethode, wo es auf so genaue Mengenverhältnisse nicht ankommt. Die Ursache hierfür liegt darin, daß der Prozeß beim Eisenhydroxyd reversibel, beim Kaolin nicht reversibel ist. Die untersuchten Blutarten kamen 10 Minuten bis $^1/_2$ Stunde nach der Entnahme zur Verarbeitung.

Daß der zum Serum zugesetzte Traubenzucker nach dem Enteiweißen mit Ferr. oxyd. dial. quantitativ wiedergewonnen werden kann, zeigen folgende Versuche, zu welchen wir durch ca. 3 Monate lang dauerndes Stehen zuckerfrei gewordenes Serum vom Pferde benutzten.

12. 50 ccm Serum + 0,5 g Traubenzucker + 550 ccm Wasser + 40 ccm Ferr. oxyd. dial. Filtriert 500 ccm, eingeengt auf 88 ccm. Dreht 0,445° (im 2 dcm-Rohr), d. h. gefunden 0,502 g Zucker.
13. 50 ccm Serum + 0,5035 g Traubenzucker + 550 ccm Wasser + 40 ccm Ferr. oxyd. dial. Filtriert. 500 ccm davon eingeengt auf 86 ccm. Dreht (im Zuckerrohr) 0,47°. Demnach gefunden 0,511 g Zucker.
14. 50 ccm Serum + 0,5013 g Traubenzucker + 550 ccm Wasser + 40 ccm Ferr. oxyd. dial. Filtriert. 500 ccm davon eingeengt auf 84 ccm. Dreht (im Zuckerrohr) 0,48°. Demnach gewonnen 0,5160 g Zucker.
15. 50 ccm Serum + 0,5079 g Traubenzucker + 550 ccm Wasser + 40 ccm Ferr. oxyd. dial. Filtriert. 500 ccm davon auf 74 ccm eingeengt. Dreht (im Zuckerrohr) 0,54°. Demnach gefunden 0,5110 g Zucker.

Kehren wir zu den Versuchen mit Kaolin zurück, so wollen wir zunächst einige Werte anführen, die bei der Bestimmung des Zuckers in verschiedenen Fällen nach dem Enteiweißen mit diesem Mittel gefunden worden sind.

16. Plasma (Oxalat) vom Pferde. In 50 ccm wurden mittels Reduktion gefunden in zwei Parallelversuchen 63,5 mg und 64,2 mg Zucker.
17. Plasma (Oxalat) vom Pferde. In 50 ccm wurden mittels Reduktion gefunden in zwei Parallelversuchen 65,9 mg und 68,2 mg Zucker.
18. Plasma (Oxalat) vom Pferde. In 50 ccm wurden mittels Reduktion gefunden in zwei Parallelversuchen 69,3 mg und 71,2 mg Zucker.
19. Blutserum vom Menschen. Mittels Reduktion in 50 ccm gefunden 80 mg Zucker.
20. Menschliches Blutserum (Diabetes). Mittels Reduktion in 50 ccm gefunden 86 mg Zucker.
21. Menschliches Blutplasma (FlNa). Mittels Reduktion in 100 ccm gefunden 106,5 mg Zucker.
22. Menschliches Blutplasma (FlNa). Mittels Reduktion in 50 ccm gefunden 72,5 mg Zucker.
23. Menschliches Blutplasma (FlNa). Mittels Reduktion in 50 ccm gefunden 49,3 mg Zucker.
24. Menschliches Blutplasma (Oxalat [Nephritis]). Mittels Reduktion in 50 ccm gefunden 46,0 mg Zucker.
25. Menschliches Blutplasma (Oxalat [Pneumonie]). Mittels Reduktion gefunden 64,5 mg Zucker.

Nach den vorhergehenden Versuchen muß der so gefundene den gesamten, in freier Form im Blute zirkulierenden Zucker repräsentieren, da, wie wir sehen, der freie Zucker von Kaolin nicht adsorbiert wird. Wir legten uns nun die Frage vor, ob es nicht möglich wäre, durch die vorherige Enteiweißung der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit kolloidalen Stoffen Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, ob nicht ein gewisser Teil des Zuckers in einer Bindungsform im Blute vorhanden ist, die dessen Nachweis durch Reduktion oder Polarisation vereitelt, wobei wir zunächst von der speziellen Art einer möglichen Bindung absahen.

Durch Adsorbentien, wie Kaolin, werden, wie bekannt, alle möglichen Stoffe, auch Elektrolyte adsorbiert[1]), aber von diesen, selbst von den am besten adsorbierbaren Elektrolyten, immer

[1]) Wir verweisen auf unsere frühere Mitteilung: Michaelis, Pincussohn und Rona, diese Zeitschr. 6, 1.

nur verhältnismäßig geringe Mengen, ein um so höherer prozentischer Anteil, je geringer die Menge dieses Elektrolyten ist. Anders liegen die Verhältnisse bei den Kolloiden. Diese werden gewöhnlich in großen Mengen adsorbiert, so daß es bei nicht zu hoher Konzentration derselben möglich ist, sie quantitativ an das Adsorbens zu binden, und zwar herrscht hier die Regel, daß entgegengesetzt geladene Kolloide einander ausfällen können[1]). Es lag daher die Möglichkeit vor, daß der Zucker, wenn er in einer irgendwie kolloidaler Form im Serum enthalten wäre, vom Kaolin zum Teil oder gar vollkommen adsorbiert werden würde. Als Vorversuche in dieser Richtung untersuchten wir daher, ob Glykogen (Glykogen puriss. Merck) vom Kaolin adsorbiert wird, und fanden dies in der Tat bestätigt. Auch wurde bei der Manipulation aus dem zugesetzten Glykogen kein Zucker abgespalten.

26. 0,05 g Glykogenum puriss. in 20 ccm Wasser gelöst, mit 4 gtts. Essigsäure versetzt und mit 4 g Kaolin geschüttelt, filtriert, das neutralisierte Filtrat mit Speichel versetzt. Reduktion negativ. Das Filtrat wird mit 2% HCl 1 Stunde auf dem Wasserbade gekocht. Die Flüssigkeit zeigt keine Reduktion.

27. 0,1 g Glykogen in 500 ccm Wasser gelöst + 20 gtts. Essigsäure + 200 g Kaolin. Das eingeengte Filtrat zeigt nach längerem Kochen mit 2,5% HCl keine Reduktion.

28. 50 ccm altes Serum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Glykogen auf 1000 ccm Wasser aufgefüllt + 20 gtts. Essigsäure + 300 g Kaolin. Gefunden wurden (mittels Polarisation) 0,051% Zucker.

29. 50 ccm altes Serum (mit 0,056% Zucker) + 0,1 g Glykogen auf 1000 ccm Wasser aufgefüllt + 20 gtts. Essigsäure + 300 g Kaolin. Gefunden wurden (mittels Reduktion) 0,0276 g Zucker = 0,055%.

30. 50 ccm altes Serum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Glykogen auf 1000 ccm aufgefüllt + 20 gtts. Essigsäure + 250 g Kaolin. Die abgesaugte Flüssigkeit wurde eingeengt, in einer Hälfte der Zucker (mittels Reduktion) gleich, in einer anderen Hälfte nach dreistündigem Kochen mit 2% HCl im siedenden Wasserbade bestimmt. Es wurden gefunden bzw. 0,0103 g und 0,0148 g Zucker, zusammen 0,0251 g (statt 0,0250 g).

31. 50 ccm altes Serum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Glykogen auf 1000 ccm aufgefüllt, mit Kaolin enteiweißt, im eingeengten Filtrat der Zucker mittels Reduktion bestimmt. Gefunden mittels Reduktion 30,7 mg (0,061%) Zucker.

---

[1]) Vgl. R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl., 221 ff.

32. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Traubenzucker + 0,1 g Glykogen auf 1000 ccm aufgefüllt, mit Kaolin enteiweißt. Zuckergehalt (mittels Reduktion) 0,116 g, davon ab 0,025 g, bleiben 0,091 g Zucker.

33. 50 ccm altes Pferdeserum (mit 0,05% Zucker) + 0,1 g Glykogen + 0,1 g Traubenzucker auf 1000 ccm aufgefüllt, mit Kaolin (300 g) enteiweißt. Die abgenutschte Flüssigkeit (820 ccm) wird auf 18 ccm eingeengt. Darin gefunden mittels Reduktion und polarimetrisch übereinstimmend 0,58% Zucker, d. h. im Serum 0,254% Zucker.

Für das kolloidale Verhalten des Zuckers im Blute konnten diese Versuche zunächst natürlich keine Anhaltspunkte geben; denn auch im Falle, daß der Zucker sich teilweise in dieser Form befindet, brauchte er sich nicht dem Kaolin gegenüber wie dem Blute zugefügtes Glykogen zu verhalten. Aussichtsreicher in dieser Richtung war hingegen der Vergleich der bei der Kaolinmethode gewonnenen Zuckerwerte mit den durch eine der bewährten Enteiweißungsmethoden gefundenen, und besonders interessant mußte der Vergleich mit den Werten der Eisenmethode sein, da die beiden Kolloide, ihrem entgegengesetzten elektrischen Verhalten gemäß, sich einem Kolloid gegenüber verschieden verhalten mußten. Es ist nun höchst bemerkenswert, daß wir bei den bisher ausgeführten Parallelversuchen bei der Eisenmethode stets bedeutend geringere Mengen Zucker als bei der Kaolinmethode gefunden haben, Differenzen, die die Fehlergrenzen der Methode sicher übersteigen.

34. Gefunden wurde im frischen Pferdeplasma (Oxalat) nach der Kaolinmethode 1,27% Zucker, nach der Eisenmethode 0,924% (Bestimmung mittels Reduktion).

35. Gefunden wurde im frischen Pferdeplasma (Oxalat) nach der Kaolinmethode 0,134% Zucker, nach der Eisenmethode 0,106% (Bestimmung mittels Reduktion).

36. Gefunden wurde im frischen Pferdeplasma (Oxalat) nach der Kaolinmethode 0,1008%, nach der Eisenmethode 0,060% Zucker (Bestimmung polarimetrisch).

37. Gefunden wurde im frischen Pferdeplasma (Oxalat) nach der Kaolinmethode 0,138%, nach der Eisenmethode 0,115% (Bestimmung mittels Reduktion).

38. Gefunden wurde im frischen Pferdeplasma (Oxalat) nach der Kaolinmethode 0,144%, nach der Eisenmethode 0,120% (Bestimmung mittels Reduktion).

Da der freie Zucker nach beiden Methoden, wie oben nachgewiesen, quantitativ wiedergewonnen wird, ist es naheliegend, so große Vorsicht auch in der Deutung des Befundes geboten ist, und so notwendig es auch ist, durch weitere Versuche diesen Befund zu stützen, die Differenz darauf zurückzuführen, daß ein Teil des Zuckers in Form eines elektronegativen Kolloids vom kolloidalen Eisenhydroxyd niedergeschlagen wird, während bei der Kaolinmethode dieses Kolloid als freier Zucker imponiert, entweder weil die angenommene kolloidale Bindung durch das Ansäuern gelöst wurde, oder dieser kolloidale Zucker als elektronegatives Kolloid vom ebenfalls elektronegativen Kaolin nicht adsorbiert, im Laufe der weiteren Manipulation in freien Zucker verwandelt wird. Die Kaolinmethode würde demnach die Gesamtmenge des im Blute sowohl in freier als in gebundener Form vorhandenen Zuckers angeben. Weitere Versuche bei Anwendung der Eisenmethode auf direkt aus der Ader entnommenes Blut, wie auch das Verfolgen der zeitlichenn Verhältnisse und das nähere Studium des Einflusses der Reaktion der Flüssigkeit werden hoffentlich weitere Aufklärung in dieser Richtung geben. Wir glauben jedenfalls durch diese Mitteilung die dazu notwendigen methodologischen Grundlagen festgelegt zu haben.

Eine weitere Tatsache, die noch der Aufklärung bedarf, ist, daß wir bei Parallelversuchen mit der Kaolinmethode und mit dem vielfach geübten und bewährten Enteiweißen nach Abeles bei dem letzten Verfahren auch stets um 10—15% geringere Werte als beim ersteren gefunden haben. Die stete Wiederkehr dieses Befundes spricht dafür, daß diese Differenz, wenn sie auch absolut betrachtet recht gering ist, kaum methodischen Fehlern zugeschrieben werden kann.

39. In 100 ccm menschlichem Blutplasma (FlNa) wurden gefunden nach der Kaolinmethode 106,5 mg, nach Abeles 97,3 mg Zucker (Bestimmung mittels Reduktion).

40. In 50 ccm menschlichem Blutplasma (FlNa) wurden gefunden nach der Kaolinmethode 46,1 mg, nach Abeles 43,7 mg Zucker (Bestimmung mittels Reduktion).

41. In 50 ccm menschlichem Blutplasma (Oxalat) wurden gefunden nach der Kaolinmethode 69,5 mg, nach Abeles 56 mg Zucker (Bestimmung mittels Reduktion).

42. In 50 ccm frischem Pferdeplasma (Oxalat) wurden gefunden nach der Kaolinmethode 67 mg, nach Abeles 57,6 mg Zucker (Bestimmung mittels Reduktion).
43. In 50 ccm menschlichem Plasma (Oxalat) wurden gefunden nach der Kaolinmethode 64,2 mg, nach Abeles 54,8 mg Zucker (Bestimmung mittels Reduktion).

Da bei der Verarbeitung des Eiweißrückstandes die äußerste Sorgfalt, die die Vorschrift von Abeles noch übertraf, angewendet wurde, andererseits bei Beachtung dieser Fehlerquelle auch bei diesem Verfahren, wie die Tabellen von Abeles zeigen, der zugesetzte freie Zucker quantitativ wiedergewonnen wird, so ist ein ursächlicher Zusammenhang der geringeren Werte bei diesem und dem Eisenverfahren, die beide bei der normalen Reaktion des Blutserums ausgeführt werden, gegenüber denen bei der Kaolinmethode nicht ganz von der Hand zu weisen. Auch über diesen Punkt ist eine weitere Untersuchung erforderlich, bis für irgend welche Schlußfolgerungen die nötige experimentelle Basis gegeben ist.

# Beitrag zum Studium der Wasserresorption durch das Magen-Darmrohr.

Experimentelle Untersuchungen.

Von

**Gennaro D'Errico.**

(Aus dem Institut für experimentelle Physiologie der Kgl. Universität Neapel unter Leitung von Prof. Filippo Bottazzi.)

*(Eingegangen am 7. November 1907.)*

## I. Bibliographische Vorbemerkungen und Ziel der Untersuchungen.

Die Autoren, die das wichtige Thema der Wasserresorption im Verdauungskanal behandelt haben, verwendeten im allgemeinen bei ihren Untersuchungen entweder die Methode von Gumilewsky[1]) und Röhmann[2]) oder die von Lannois und Lépine[3]). Erstere besteht darin, daß man die Flüssigkeit, deren Resorption man studieren will, in die vermittels der Thiry-Vellaschen Methode isolierte Darmschlinge einführt; letztere besteht in der Einführung der Flüssigkeit in Darmstrecken, die zwischen zwei Ligaturen eingeschränkt auf eine gewisse Zeit wieder in die Bauchhöhle gebracht und dann nochmals herausgenommen werden, um auf ihren Inhalt untersucht zu werden.

Die vermittels der erwähnten Methoden erhaltenen Resultate können nicht vollständig zuverlässig sein, da ja bei beiden Methoden die Bedingungen von den normalen sehr verschieden sind. Einerseits fehlt dabei die Anwesenheit von Flüssigkeiten, die unter normalen Verhältnissen die Mucosa bespülen (Galle, Pankreassaft usw.); andererseits verursachen die den Ligaturen ent-

---

[1]) Gumilewsky, Arch. f. d. ges. Physiol. **39**, 566.

[2]) Röhmann, Arch. f. d. ges. Physiol. **41**, 411.

[3]) Lannois and Lépine, Arch. de Physiol. **1883**, 92; vgl. Richet Ch., Dictionnaire de Physiol. **1**, 28, 1895.

sprechenden Zusammenpressungen der Gefäße Änderungen des Kreislaufes, welche gewiß die Resorption stark beeinflussen müssen.

Sydney Edkins[1]) versuchte, einige der angeführten Übelstände teilweise zu vermeiden und durch seinen Scharfsinn gelang es ihm, wenigstens einen der Faktoren, den Druck der zur Resorption bestimmten Flüssigkeiten, konstant zu erhalten. Dieses Resultat erzielte er durch eine sinnreiche Durchführung des Experimentes. Edkins Untersuchungen haben jedoch den Fehler, daß sie stets an Tieren ausgeführt wurden, die er durch Morphium und Atropin unempfindlich gemacht hatte, und diese Stoffe verursachen eine nicht unbedeutende Störung bei den Faktoren der Resorption.

von Mering[2]) führte zahlreiche Untersuchungen aus behufs Untersuchung der Resorption durch die Mucosa des Magens hindurch, wobei er eine Fistel des Duodenums anlegte und in den Magen der so operierten Tiere verschiedene Flüssigkeiten einführte, die in aufeinanderfolgenden Zeitabschnitten aufgefangen, gemessen und analysiert wurden. Auf diese Weise wies er hinsichtlich der Resorption des Wassers nach, daß die aus der Fistel ausgetretene Menge Wasser beinahe der in den Magen eingeführten gleich war, woraus er schloß, daß das Wasser durch den Magen in kaum nennenswerter Weise resorbiert wird. Derselbe Autor beobachtete auch, daß bei Anlegung der Duodenalfistel die Spannung der Pylorusklappe nachläßt, die unter normalen Bedingungen das Wasser längere Zeit hindurch im Magen zurückhält und dadurch vielleicht seine Resorption ermöglicht.

Wenn die Gesetze der Diffusion und der Osmose nicht ausreichen, um die Resorption der Krystalloide und Kolloide zu erklären (wie es die Untersuchungen von Heidenhain[3]), Hamburger[4]), Cohnheim[5]), Höber[6]) und anderen nachgewiesen haben), und wenn es wahr ist, daß die Resorption derartiger

---

[1]) Sydney Edkins, Journ. of Physiol. 13, 444, 1892.

[2]) von Mering, Über die Funktion des Magens. Therap. Monatsh., Mai 1893.

[3]) Heidenhain, Arch. f. d. ges. Physiol. 56, 579, 1894.

[4]) Hamburger, Du Bois-Reymonds Archiv 1895—96.

[5]) Cohnheim, Zeitschr. f. Biol. 1897—99—1900.

[6]) Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 70, 624, 1898.

Substanzen auch von der speziellen physiologischen Tätigkeit der die resorbierenden Wände auskleidenden Epithelzellen abhängt, so würde die Ansicht begründet zu sein scheinen, daß wenigstens die Resorption des Wassers ausschließlich durch physikalisch-chemische Bedingungen reguliert würde. Um einen Beitrag zur Lösung dieser wichtigen Frage zu liefern, haben wir auf Anraten des Institutsdirektors Prof. Bottazzi uns die Aufgabe gestellt, die Resorption des Wassers durch die Mucosa des Magen-Darmrohres zu studieren, nachdem wir vorher die molekulare Konzentration des Blutes vermittels intravaskulärer Injektionen von hypo- und hypertonischen NaCl-Lösungen verändert hatten.

## II. Technik des Verfahrens.

Wir experimentierten an Hunden von geringem Gewicht (8—12 kg), die nicht narkotisiert und während der den Versuchen vorausgehenden Tage mit Kalomel purgiert worden waren; sie hatten wenigstens 24 Stunden lang gehungert.

Um das Wasser in den Magen einzuführen, legten wir das Tier auf den Rücken, drückten ihm vermittels des Tatinschen Munderweiterers den Unterkiefer nach unten und führten in den Magen eine Kautschuksonde ein, die mit einem stets auf gleichem Niveau erhaltenen Wasserbehälter in Verbindung stand. In den Fällen, in denen wir mit Übergehung des Magens das Wasser direkt in den Dünndarm injizieren wollten, mußten wir, um dies mit Sicherheit durchzuführen, das Abdomen des Tieres entsprechend der Linea alba eröffnen, durch die Magenwand hindurch das Ende der (mit einer eingeölten Glaskanüle versehenen) Sonde suchen und sie durch den Pylorus führen, wo sie vermittels einer kreisförmigen Ligatur unter der Serosa befestigt wurde, um soviel als möglich die Gefäße und Nerven zu schonen. Hierauf wurde die Bauchwunde genäht.

Da es sich um Experimente von langer Dauer handelte, trugen wir Sorge, das Tier zur Vermeidung einer Erkältung in gewärmte Tücher einzuhüllen. Nachdem so der Weg zur Einführung des Wassers gebahnt war, führten wir die Experimente aus, von denen jedes aus folgenden Abschnitten bestand: 1. Entnahme einer Probe von normalem Blut; 2. intravaskuläre Injektion einer hypertonischen NaCl-Lösung; 3. Entnahme einer zweiten

Blutprobe; 4. Einführung einer bestimmten Menge Trinkwasser (Serino-Wasser) in den Magen oder in das Darmrohr; 5. Auffangen einer dritten Blutprobe nach Verlauf von 1—2 Stunden; Tötung des Tieres vermittels Durchstechens des Bulbus und Entnahme der im Magen oder im Darmrohr enthaltenen Flüssigkeit.

Sodann wurde das Volumen der bei der Sektion im Magen und im Darmrohr gefundenen Flüssigkeit im Vergleich zu der eingeführten gemessen; hierauf wurden die physikalisch-chemischen Eigenschaften (Gefrierpunkterniedrigung und elektrische Leitfähigkeit) bestimmt. Dasselbe geschah mit den Blutproben und wenn möglich auch mit dem Harn.

Die vorliegenden Untersuchungen können in vier Gruppen von Experimenten eingeteilt werden. Bei der ersten Gruppe haben wir die Wasserresorption durch die Mucosa des Magens nach intravaskulären Injektionen von hypotonischen NaCl-Lösungen untersucht; bei der zweiten Gruppe dieselbe Resorption durch die Mucosa des Magens nach intravasculären Injektionen von hypertonischen Lösungen; bei der dritten und vierten Gruppe die Resorption des Wassers durch die Mucosa des Darmrohrs nach intravenösen Injektionen von hypotonischen (3. Gruppe) oder hypertonischen (4. Gruppe) NaCl-Lösungen.

## III. Beschreibung der Versuche.

### 1. Experiment.

Hündin von 7,600 kg Gewicht.

19. Dezember. Darreichung eines Purgiermittels (20 cg Kalomel).

20.—21.—22. Dezember. Das Tier hungert.

23. Dezember:

| | |
|---|---|
| 2 h 30′ nachm. | Entnahme einer Blutprobe (I) aus der A. cruralis. |
| 2 h 45′ „ | Intravasculäre Injektion von 300 ccm einer hypotonischen (4 $^0/_{00}$) NaCl-Lösung. |
| 3 h 5′ „ | Entnahme einer zweiten Blutprobe (II) und gleichzeitige Einführung von 500 ccm von Trinkwasser (Serino-Wasser: $\varDelta = 0^\circ,005$) vermittels der Sonde in den Magen des Tieres. |
| 3 h 35′ „ | Entnahme einer dritten Blutprobe (III) und Tötung des Tieres. |

### *Autopsie.*

Im Magen finden sich 300 ccm einer grünlich-gelben Flüssigkeit. Das Intestinum ist vollständig leer, desgleichen die Harnblase.

Die Resultate der an den entnommenen Flüssigkeiten ausgeführten physikalisch-chemischen Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle I.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie im Magen gefundene Flüssigkeit | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Makroskopische Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Makroskopische Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ |
| Normale | I | klar | 0°,580 | $130 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| Intravasculäre Injektion von 300 ccm einer (4°/₀₀) hypotonischen NaCl-Lösung | II | leicht getrübt und von Hämoglobin gefärbt | 0°,550 | $137 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| $^1/_2$ Stunde nach Einführung von 500 ccm Trinkwasser in den Magen | III | hämatisch | 0°,525 | $125 \times 10^{-4}$ | 300 | trüb, grünlich-gelb | 0°,040 | $16 \times 10^{-4}$ |

### 2. Experiment.

Hund von 7,650 kg Gewicht.

13. Januar 1907. Dem Tiere werden 20 cg Kalomel eingegeben.

14. und 15. Januar. Das Tier hungert.

16. Januar:

2 h 45′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I) aus der A. cruralis.

2 h 55′ ,, Intravasculäre Injektion von 300 ccm einer hypotonischen (4°/₀₀) NaCl-Lösung.

2 h 57′ ,, Entnahme einer weiteren Blutprobe (II).

3 h ,, Einführung von 500 ccm aqua communis vermittels der Magensonde in den Magen.

4 h 15′ ,, Entnahme einer dritten Blutprobe (III) und Tötung des Tieres.

*Autopsie.*

Im Magen finden sich 190 ccm einer gelblichen Flüssigkeit; Intestinum und Harnblase sind vollständig leer.

Die Ergebnisse der an den entnommenen Flüssigkeiten ausgeführten physikalisch-chemischen Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle II.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie dem Magen entnommene Flüssigkeit | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Makroskopische Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Makroskopische Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ |
| Normale | I | klar | 0°,580 | $137 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| Intravasculäre Injektion von 300 ccm einer hypotonischen (4 ‰) NaCl-Lösung | II | trüb und hämatisch | 0°,565 | $133 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| Eine Stunde 15′ nach Einführung von 500 ccm Trinkwasser in den Magen | III | sehr hämatisch | 0°,555 | $130 \times 10^{-4}$ | 190 | grünlich-gelb | 0°,050 | $21 \times 10^{-4}$ |

3. Experiment.

Hund von 10,030 kg Gewicht.

20. Januar 1907. Dem Tier werden 30 cg Kalomel eingegeben.

21. und 22. Januar. Völliges Hungern.

23. Januar:

3 h 27′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

3 h 30′—4 h nachm. Intravasculäre Injektion von 200 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung.

4 h nachm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (II).

4 h 5′ „ Einführung von 500 ccm Wasser in den Magen.

5 h „ Entnahme einer dritten Blutprobe und Tötung des Tieres.

*Autopsie.*

Im Magen finden sich 500 ccm einer dichten bernsteingelben Flüssigkeit (III. Tafel, Vogel); Darm leer; Harnblase gefüllt.

Die Ergebnisse der an den entnommenen Flüssigkeiten ausgeführten weiteren Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle (III) verzeichnet.

Tabelle III.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie dem Magen entnommene Flüssigkeit | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | |
| Normale | I | klar | 0°,575 | $148 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — |
| Intravenöse Injektion von 300 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung | II | klar | 0°,865 | $256 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — |
| 55' nach Einführung von 500 ccm Trinkwasser in d. Magen | III | klar | 0°,835 | $227 \times 10^{-4}$ | 500 | etwas trübe, gelb; saure Reaktion; reich an Mucin | 0°,120 | $31 \times 10^{-4}$ | Molekulare Konzentration in der Blase $\Delta$ = 0°,980 |

4. Experiment.

Hund von 6,250 kg Gewicht.

8. Februar 1907. Dem Tiere werden 25 cg Kalomel eingegeben; den 9. und 10. Februar verbringt es in vollständigem Hungerzustand.

11. Februar:

1 h 15′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

2 h—2 h 30′ nachm. Intravenöse Injektion von 200 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung.

2 h 30′ nachm. Entnahme einer zweiten Blutprobe (II).

2 h 30′ „ Einführung von 250 ccm Trinkwasser in den Magen vermittels der Sonde.

3 h 30′ „ Das Tier macht Versuche, sich zu erbrechen. Nach Entnahme einer letzten Blutprobe wird es getötet.

*Autopsie.*

Im Magen finden sich 230 ccm einer gelblichen Flüssigkeit, im Darmrohr wenige Kubikzentimeter einer dichten, schaumigen Flüssigkeit; die Harnblase ist gefüllt.

Die Resultate der physikalisch-chemischen Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie dem Magen entnommene Flüssigkeit | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37°C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37°C}$ | |
| Normale | I | klar | 0°,595 | $140 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | |
| Intravenöse Injektion von 200 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung | II | klar | 0°,875 | $259 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | |
| Eine Stunde nach Einführung von 250 ccm Trinkwasser in den Magen | III | klar | 0°,865 | $224 \times 10^{-4}$ | 230 | trüb, fadenziehend, gelblich, sauer | 0°,290 | $90 \times 10^{-4}$ | Physikalisch-chemische Merkmale des bei der Autopsie des Tieres in der Blase gefundenen Harns: $\Delta = 1°,945$ $K_{37°C} = 239 \times 10^{-4}$ |

5. Experiment.

Hund von 6,500 kg Gewicht.

13. Februar 1907. Dem Tiere werden 30 cg Kalomel eingegeben; am 14. und 15. Februar hungert es.

16. Februar:

2 h 15′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

2 h 20′—2 h 50′ nachm. Intravasculäre Injektion von 200 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung.

2 h 50′ nachm. Entnahme einer zweiten Blutprobe (II).

2 h 50′ „ Injektion von 500 ccm Trinkwasser in den Magen.

4 h „ Das Tier hat Erbrechen, und es erweist sich als unmöglich, die erbrochene Flüssigkeit zu messen.

4 h 5′ „ Entnahme einer dritten Blutprobe (III); das Tier wird getötet.

*Autopsie.*

Blase übermäßig gefüllt (250 ccm Harn); im Magen finden sich 490 ccm einer gelblich gefärbten Flüssigkeit; der Darm ist leer.

Die Ergebnisse der physikalisch-chemischen Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle V.

| Experimentelle Bedingungen | Proben | Blutserum | | | Bei der Autopsie im Magen gefundene Flüssigkeit | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Merkmale | Δ | $K_{37^\circ}$ C | Volumen in ccm | Merkmale | Δ | $K_{37^\circ}$ C | |
| Normale | I | klar | 0°,590 | $144 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | |
| Nach intravasculärer Injektion von 200 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung | II | klar | 0°,830 | $239 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | |
| Eine Stunde 15' nach Einführung von 500 ccm Trinkwasser in d. Magen | III | klar | 0°,750 | $193 \times 10^{-4}$ | 490 | trüb, gelblich, sauer | 0°,170 | $50 \times 10^{-4}$ | Harn: Δ = 1°,470 $K_{37^\circ}$ C = $268 \times 10^{-4}$ |

6. Experiment.

Hund von 6,500 kg Gewicht.

Das Tier erhält 30 cg Kalomel und hungert zwei Tage.

7. März:

| | | |
|---|---|---|
| 1 h 5' | nachm. | Entnahme einer Blutprobe (I). |
| 1 h 7' | „ | Intravasculäre Injektion von 200 ccm einer hypotonischen (4 °/₀₀) NaCl-Lösung. |
| 1 h 12' | „ | Entnahme einer weiteren Blutprobe (II). |
| 1 h 15' | „ | Einführung von 100 ccm Wasser in das Darmrohr vermittels der am Pylorus befestigten Sonde. |
| 1 h 45' | „ | Idem. |
| 3 h 15' | „ | 50 ccm idem. |
| 4 h | „ | Entnahme einer weiteren Blutprobe (III) und Tötung des Tieres. |

*Autopsie.*

Darm: 70 ccm einer durch Fäkalstoffe gefärbten Flüssigkeit.

Magen: Wenige Kubikzentimeter sehr dicken Schleims; Blase leer.

NB. Wenige Minuten vor dem Tode erfolgten bei dem Tiere flüssige Entleerungen, von denen wir eine Probe (70 ccm) auffingen.

Die Resultate der Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

**Tabelle VI.**

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Darmflüssigkeit (bei der Autopsie gefunden) | | | | Magenflüssigkeit (bei der Autopsie gefunden) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37°C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37°C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ |
| Normale | I | klar | 0°,610 | $145 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — |
| Nach intravasculärer Injektion von 200 ccm einer hypotonischen (4‰) NaCl-Lösung | II | durch Hämoglobin gefärbt | 0°,590 | $151 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — |
| Nach Einführung von 200 ccm Wasser in den Darm | III | hämatisch | 0°,530 | $138 \times 10^{-4}$ | 70 | Faeces enthaltend | 0°,450 | $126 \times 10^{-4}$ | 15 | sehr schleimig und dick | 0°,530 |

### 7. Experiment.

**Hund von 11 kg Gewicht.**

Purgiert mit 30 cg Kalomel; hungerte dann zwei Tage lang.

21. März:

| | | |
|---|---|---|
| 1 h 45′ | nachm. | Entnahme einer Probe von normalem Blut (I). |
| 1 h 45′ | „ | Intravasculäre Injektion von 300 ccm einer hypotonischen (4 ‰) NaCl-Lösung. |
| 1 h 50′ | „ | Entnahme einer zweiten Blutprobe (II). |
| 2 h | „ | Einführung von 50 ccm gewöhnlichen Wassers ins Darmrohr vermittels einer am Pylorus befestigten Sonde. |
| 2 h 15′ | „ | Einführung von weiteren 25 ccm Wasser ins Darmrohr. |
| 2 h 30′ | „ | Nochmals 25 ccm. |
| 2 h 45′ | „ | do. |
| 2 h 50′ | „ | Nach wiederholten Versuchen, sich zu erbrechen, gibt das Tier 50 ccm Wasser von sich, die aufgefangen werden. |
| 3 h 10′ | „ | Intravasculäre Injektion von 150 ccm einer hypotonischen (4 ‰) NaCl-Lösung. |
| 3 h 15′ | „ | Entnahme einer dritten Blutprobe. |
| 3 h 15′ | „ | Einführung von 50 ccm gewöhnlichen Wassers ins Darmrohr vermittels einer am Pylorus befestigten Sonde. |
| 3 h 45′ | „ | Versuch, weitere 50 ccm Wasser ins Darmrohr einzuführen; das Tier versucht wieder sich zu erbrechen und gibt 20 ccm Flüssigkeit von sich. |
| 4 h 15′ | „ | Entnahme einer vierten Blutprobe und Tötung des Tieres. |

*Autopsie.*

Darmrohr: 60 ccm einer Flüssigkeit, die ganz das Aussehen von Darmsaft hat.

Magen: Einige Kubikzentimeter einer sehr dicken und schleimigen Flüssigkeit; Blase leer.

Die Resultate der physikalisch-chemischen Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle VII.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Erbrochene Flüssigkeit | | | | Darmflüssigkeit (bei der Autopsie gefunden) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ |
| Normale | I | klar | 0°,585 | $130 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Nach intravasculärer Injektion von 300 ccm einer hypotonischen (4‰) NaCl-Lösung | II | — | 0°,540 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Nach einer weiteren intravasculären Injektion von 150 ccm einer hypotonischen (4‰) NaCl-Lösung | III | durch Hämoglobin gefärbt | 0°,520 | $138 \times 10^{-4}$ | 50 | gelblich | 0°,210 | $69 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| Nach Einführung von 225 ccm Wasser in den Darm | IV | durch Hämoglobin gefärbt | 0°,530 | $138 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | 60 | dick, gelblich | 0°,530 | $132 \times 10^{-4}$ |

### 8. Experiment.

Hund von 7,050 kg Gewicht.

Nachdem das Tier 30 cg Kalomel erhalten hat, mußte es zwei Tage vollständig hungern.

27. März:

| | | |
|---|---|---|
| 2 h 10' | nachm. | Entnahme einer Blutprobe (I). |
| 2 h 12'—2 h 35' | nachm. | Intravasculäre Injektion von 200 ccm einer 4 prozentigen NaCl-Lösung. Entnahme einer weiteren Blutprobe (II). |
| 2 h 40' | nachm. | Einführung von 100 ccm Wasser in den Darm. |
| 2 h 55' | ,, | ,, ,, 100 ,, ,, ,, ,, ,, |
| 3 h 10' | ,, | ,, ,, 100 ,, ,, ,, ,, ,, |
| 3 h 25' | ,, | ,, ,, 100 ,, ,, ,, ,, ,, |
| 3 h 40' | ,, | ,, ,, 100 ,, ,, ,, ,, ,, |
| 3 h 45' | ,, | Das Tier erbricht sich. |
| 3 h 47' | ,, | Entnahme einer Blutprobe (III). |
| 3 h 50' | ,, | Nach Wiedereröffnung des Abdomens wird konstatiert, daß die Sonde sich vom Pylorus getrennt hat und in den Magen einsinkt; sie wird wieder an die richtige Stelle gebracht und in die V. femu- |
| 4 h | ,, | ralis werden weitere 100 ccm derselben hypertonischen 4 prozentigen NaCl-Lösung injiziert. |
| 4 h 15' | ,, | Entnahme einer Blutprobe (IV). |
| 4 h 20' | ,, | Injektion von 125 ccm Wasser in den Darm. |
| 4 h 40' | ,, | ,, ,, 125 ,, ,, ,, ,, ,, |
| 5 h 20' | ,, | Entnahme einer Blutprobe (V); das Tier wird getötet. |

Bei der Autopsie finden sich im Magen 250 ccm einer gelblichen Flüssigkeit; der Darm ist fast leer, abgesehen von einem schaumigen Brei von Fäkalmassen; die Blase ist gefüllt.

Die Resultate der an den aufgefangenen Flüssigkeiten ausgeführten Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle VIII verzeichnet.

### 9. Experiment.

Hund von 6,330 kg Gewicht.

Das Tier wird mit Kalomel purgiert und hungert zwei Tage.

19. April:

1 h 30' nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

Tabelle VIII.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie im Magen gefundene Flüssigkeit | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | |
| Normale | I | klar | 0°,620 | 140×10⁻⁴ | — | — | — | — | |
| Nach intravasculärer Injektion von 200ccm einer (4%) NaCl-Lösung | II | klar | 0°,720 | 196×10⁻⁴ | — | — | — | — | |
| Nach Einführung von 500 ccm Wasser in den Darm | III | klar | 0°,690 | 178×10⁻⁴ | — | — | — | — | |
| Nach einer weiteren Injektion (100 ccm) derselben (4%) NaCl-Lösung | IV | klar | 0°,770 | 198×10⁻⁴ | — | — | — | — | |
| Nach Einführung von weiteren 250 ccm Wasser in den Darm | V | klar | 0°,690 | 180×10⁻⁴ | 250 | citronengelb, schleimig | 0°,090 | 25×10⁻⁴ | Harn: $\Delta$ = 0°,850 $K_{37^\circ}$ C = 216×10⁻⁴ |

1 h 40′—2 h 13′ nachm. Intravasculäre Injektion von 100 ccm einer hypertonischen (10%) NaCl-Lösung.

2 h 14′ nachm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (II).

2 h 35′ „ Einführung von 50 ccm gewöhnlichen Wassers in den Darm vermittels der, wie stets, am Pylorus befestigten Sonde.

3 h 5′ „ Weitere 50 ccm; idem.

3 h 35′ „ „ 50 „ ; idem.

4 h 5′ „ „ 50 „ ; idem.

4 h 25′ „ Entnahme einer weiteren Blutprobe (III); das Tier wird getötet.

*Autopsie.*

Darm: wenig Brei, gelblich, fadenziehend.

Magen: leer, ausgenommen einige Kubikzentimeter eines sehr dicken Schleims.

**Blase: außergewöhnlich gefüllt.**

**Die Resultate der physikalisch-chemischen Bestimmungen finden sich in der folgenden Tabelle.**

Tabelle IX.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Bei der Autopsie in der Blase gefundener Harn | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C |
| **Normale** | I | **klar** | 0°,605 | $140 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| **Nach intravasculärer Injektion von 100 ccm³ einer hypertonischen 10 % NaCl-Lösung** | II | **klar** | 0°,765 | $213 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| **Nach Einführung von 200 ccm³ gewöhnl. Wassers in den Magen** | III | klar | 0°,725 | $179 \times 10^{-4}$ | 190 | gelb, III t. Vogel | 1,055 | $203 \times 10^{-4}$ |

10. Experiment.

Hund von 12 kg Gewicht.

Das Tier wird mit Kalomel purgiert und hungert 48 Stunden.

23. April:

3 h 40′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

3 h 45′—4 h 15′ nachm. Intravasculäre Injektion von 200 ccm einer hypertonischen 10 prozentigen NaCl-Lösung. Während der Injektion fließt aus dem Darm durch die am Pylorus befestigte Kanüle eine gelbliche Flüssigkeit, die alle Merkmale des Darmsaftes hat. Eine Probe davon wird für die physikalisch-chemischen Bestimmungen entnommen.

4 h 15′ nachm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (II).

4 h 20′ „ Mit Überwindung einer gewissen Schwierigkeit, da stets Flüssigkeit aus dem Darm herausfließt, werden durch die am Pylorus befestigte Kanüle 25 ccm Wasser injiziert.

4 h 40′ „ Nochmals 25 ccm Wasser.

5 h 10′ „ „ 25 „ „
5 h 30′ „ „ 25 „ „
5 h 45′ „ Entnahme einer dritten Blutprobe; das Tier wird getötet.

*Autopsie.*

Darm: 15 ccm Flüssigkeit.
Magen: fast leer.
Blase: mit Harn gefüllt (230 ccm).

Die Ergebnisse der physikalisch-chemischen Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle X.

| Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | | | Harn (bei der Autopsie in der Blase gefunden) | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proben | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | |
| Normale | I | klar | 0°,590 | $147 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | |
| Nach intravasculärer Injektion von 200 ccm einer 10 % NaCl-Lösung | II | klar | 0°,785 | $228 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | Aus dem Darm gekommene Flüssigkeit: $\Delta = 0^\circ,825$ $K_{37^\circ C} = 190 \times 10^{-4}$ |
| Nach Einführung von 100 ccm gewöhnlichen Wassers in den Darm | III | klar | 0°,780 | $206 \times 10^{-4}$ | 230 | gelb (III t. Vogel) | 1°,250 | $240 \times 10^{-4}$ | Im Darm gefundene Flüssigkeit: $\Delta = 0^\circ,785$ $K_{37^\circ C} = 184 \times 10^{-4}$ |

## IV. Ergebnisse der Versuche und allgemeine Betrachtungen.

Aus unseren Experimenten (siehe zusammenfassende Tabelle) ergibt sich, daß intravasculäre Injektionen von hypotonischen NaCl-Lösungen, die bei vorher mit Kalomel purgierten und dann hungernden Tieren ausgeführt werden, im Blute ein plötzliches Herabsinken der molekularen Konzentration mit leichter Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit und außerdem einen Stillstand der Harnabsonderung bewirken. Intravasculäre Injektionen

## Zusammenfassende Tabelle.

| Fortlaufende Nummer des Experiments | Gewicht des Tieres in kg | Abschnitte des Experiments | Experimentelle Bedingungen | Blutserum | | Bei der Autopsie im Magen gefundene Flüssigkeit | | | | Bei der Autopsie im Darm gefundene Flüssigkeit | | | | Bei der Autopsie in der Blase gefundenen Harn | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C | Volumen in ccm | Merkmale | $\Delta$ | $K_{37^\circ}$ C |
| I | 7,600 | I | Normale | 0°,580 | $130\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 300 ccm einer 4°/₀₀-NaCl-Lösung | 0°,550 | $137\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | ½ Stunde nach Einführung von 500 ccm Wasser (Serino) in d. Magen | 0°,525 | $125\times10^{-4}$ | 300 | trüb, grünlich-gelb | 0°,040 | $16\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — |
| II | 7,650 | I | Normale | 0°,580 | $137\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 300 ccm einer 4°/₀₀-NaCl-Lösung | 0°,565 | $133\times10^{-3}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Eine Stunde 15′ nach Einführung von 500 ccm Trinkwasser in d. Magen | 0°,555 | $130\times10^{-4}$ | 190 | grünlich-gelb | 0°,050 | $21\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — |
| III | 10,030 | I | Normale | 0°,575 | $148\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 300 ccm einer 10% NaCl-Lösung | 0°,865 | $258\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | 55′ nach Einführung von 500 ccm in den Magen | 0°,835 | $227\times10^{-4}$ | 500 | trüb, schleimig, sauer | 0°,120 | $31\times10^{-4}$ | — | — | — | — | 260 | gelb (II. t. Vogel) | 0°,980 | $247\times10^{-4}$ |
| IV | 6,250 | I | Normale | 0°,595 | $140\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach Injektion von 200 ccm Lösung | 0°,875 | $259\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Eine Stunde nach Einführung von 250 ccm Wasser in den Magen | 0°,865 | $224\times10^{-4}$ | 230 | trüb, fadenziehend, sauer | 0°,290 | $90\times10^{-4}$ | — | — | — | — | 230 | gelb (III. t. Vogel) | 0°,945 | $239\times10^{-4}$ |
| V | 6,500 | I | Normale | 0°,590 | $144\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 200 ccm einer 10% NaCl-Lösung | 0°,830 | $239\times10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Eine Stunde 15′ nach Einführung von 500 ccm Wasser in den Magen | 0°,750 | $193\times10^{-4}$ | 490 | trüb, fadenziehend, sauer | 0°,170 | $50\times10^{-4}$ | — | — | — | — | 250 | gelb (III.—IV. Vogel) | 1°,470 | $268\times10^{-4}$ |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VI | 6,500 | I | Normale | 0°,610 | $145 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 200 ccm 10% NaCl-Lösung | 0°,590 | $151 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Nach Einführung von 200 ccm Wasser in den Darm | 0°,530 | $138 \times 10^{-4}$ | 15 | sehr schleimig | 0°,530 | — | 70 | fäkaloid | 0°,450 | $126 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| VII | 11,000 | I | Normale | 0°,585 | $130 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 300 ccm 4‰ NaCl-Lösung | 0°,540 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Zweite intravenöse Injektion von weiteren 150 ccm derselben Lösung | 0°,520 | $138 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | 60 | dick fäkaloid | 0°,530 | $132 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — |
| VIII | 7,050 | I | Normale | 0°,620 | $140 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 200 ccm 4% NaCl-Lösung | 0°,720 | $196 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Nach Einführung von 500 ccm Wasser in den Darm | 0°,690 | $178 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | IV | Zweite Injektion von 100 ccm 4% NaCl-Lösung | 0°,770 | $198 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | V | Einführung weiterer 250 ccm Wasser in den Darm | 0°,690 | $180 \times 10^{-4}$ | 250 | citronengelb, schleimig | 0°,090 | $25 \times 10^{-4}$ | Spuren | Mucosa fäkaloid | — | — | 250 | gelb | 0°,850 | $216 \times 10^{-4}$ |
| IX | 6,330 | I | Normale | 0°,605 | $140 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 100 ccm einer 10% NaCl-Lösung | 0°,765 | $213 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Nach Einführung von 200 ccm Wasser in den Darm | 0°,725 | $179 \times 10^{-4}$ | 10 | schleimig | — | — | einige ccm | schleimig | — | — | 190 | gelb (III. t. Vogel) | 1°,055 | $203 \times 10^{-4}$ |
| X | 12,000 | I | Normale | 0°,590 | $147 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | II | Nach intravenöser Injektion von 200 ccm einer 10% NaCl-Lösung | 0°,785 | $228 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | III | Nach Einführung von 100 ccm Wasser in den Darm | 0°,760 | $206 \times 10^{-4}$ | 14 | schleimig | — | — | 15 | sehr dick | 0°,785 | $184 \times 10^{-4}$ | 230 | gelb (III. t. Vogel) | 1°,250 | $240 \times 10^{-4}$ |

von hypertonischen Lösungen desselben Salzes, die plötzlich bei unter denselben Bedingungen gehaltenen Versuchstieren ausgeführt wurden, werden im allgemeinen sehr schlecht vertragen und führen nicht selten den Tod herbei. Werden sie sehr langsam gemacht, so werden sie vertragen und verursachen eine beträchtliche Erhöhung der molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit des Blutes; im Gegensatz zu den Folgen der hypotonischen Lösungen nimmt die Harnabsonderung zu, während die peristaltischen Bewegungen stärker werden und antiperistaltische Bewegungen auftreten, die nicht selten heftige Brechreize verursachen, während aus dem Darmrohr reichlicher Darmsaft abfließt.

Auf diese eigentümlichen durch intravasculäre Injektionen von NaCl-Lösungen von verschiedener Konzentration hervorgerufenen Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes haben wir besonderes Gewicht gelegt, weil wir sie in unserem Institut gelegentlich bei anderen Untersuchungen ausgeführt und dabei konstatiert haben, daß sie auf verschiedene Weise vertragen werden und bei den Tieren verschiedene Wirkungen hervorbringen, je nach den experimentellen Bedingungen, denen die letzteren vorher unterworfen wurden.

Unter normalen Bedingungen besitzt ein Tier erstaunliche Schutzmechanismen gegen Veränderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften der zirkulierenden Flüssigkeiten, und man braucht sich nicht darüber zu wundern, wenn man nach intravasculären Injektionen beträchtlicher Mengen von hypotonischen Lösungen nicht selten findet, daß die molekulare Konzentration des Blutes unverändert oder erhöht bleibt, fast als ob das Tier durch seine Schutzmechanismen den Versuch, die molekulare Konzentration des Blutes herabzusetzen, mehr als ausgeglichen hätte.

Das normale Tier verträgt verhältnismäßig gut Injektionen von hypertonischen Natriumchloridlösungen; die molekulare Konzentration und die elektrische Leitfähigkeit des Blutes nehmen zu; es treten allgemeine Krämpfe auf, denen eine Art Narkose folgt, während eine beträchtliche Harnabsonderung eintritt. Ist das Tier dagegen vorher (mit Kalomel) purgiert worden und hat es gehungert, so erscheinen seine Schutzmechanismen als

geschwächt, weil es infolge der Wirkung des Purgiermittels und des Hungerns, wenn nicht aus dem Blute, dessen osmotisches Gleichgewicht nicht merklich gestört wird, so doch gewiß aus den Geweben, Wasser und Salze verloren hat und weil auf hypotonische Injektionen infolge des Mangels an Salzen unfehlbar eine Herabsetzung der molekularen Konzentration des Blutes folgt. Auf hypertonische Injektionen dagegen folgt, da es an Wasser fehlt, eine rasche und beträchtliche Erhöhung der molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit des Blutes, und wenn auch die bekannten Regulationsmechanismen in Funktion treten, so werden doch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der zirkulierenden Flüssigkeiten mehr auf die Dauer geändert und das Tier erliegt oft unter heftigen Krämpfen.

Führt man nach Erniedrigung der molekularen Konzentration des Blutes in den Magen des Tieres Trinkwasser (Serino-Wasser: $\Delta = 0°,005$) ein und läßt es eine von $^1/_2$ bis zu 1 Stunde schwankende Zeitlang darin, so zeigt sich nach Tötung des Tieres bei der Autopsie, daß die Menge des in den Magen eingeführten Wassers beträchtlich abgenommen hat und der Darm vollständig leer ist. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften des vor dem Tode des Tieres aufgefangenen Blutes und diejenigen des im Magen zurückgebliebenen Wassers erweisen sich als im umgekehrten Sinne verändert, d. h. das Blut ist mehr verdünnt, die in den Magen eingeführte Flüssigkeit verhältnismäßig mehr konzentriert. Die Untersuchungen von Edkins[1]) haben nachgewiesen, daß unter beliebigen Bedingungen die Resorption des Wassers von seiten des Magens völlig unbedeutend ist. Er wählte als zu resorbierende Flüssigkeit die physiologische Kochsalzlösung; deshalb neigen wir zu dem Glauben, daß entweder eine im Vergleich zum Blute sehr hypotonische Flüssigkeit wie das Trinkwasser von der Mucosa des Magens selbst resorbiert werden kann, oder daß sie aus dem Magen, in den sie vermittels der Kanüle eingeführt wurde, in den Darm übergeht und darin schnell resorbiert wird. Die von uns durch intravasculäre Injektionen von hypotonischen Lösungen bewirkte Herabstzung der molekularen Konzentration des Blutes kann keinen großen Einfluß auf die Resorption des Trinkwassers haben, weil das Blut im Vergleich

---

[1]) Edkins, a. a. O.

zu dem von uns in den Magen eingeführten Wasser ($\Delta = 0°,005$) stets sehr hypertonisch bleibt ($\Delta = 0°,550$). Erhöht man die molekulare Konzentration, sowie die elektrische Leitfähigkeit des Blutes, führt dann Trinkwasser in den Magen ein und läßt es eine gewisse Zeitlang darin, so findet man nach Tötung des Tieres bei der Autopsie, daß das Volumen des eingeführten Wassers fast unverändert geblieben und der Darm vollständig leer ist, während die Blase außerordentlich gefüllt ist. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes und der im Magen gefundenen Flüssigkeit ändern sich in umgekehrtem Sinne, wie nach intravenösen hypotonischen Lösungen, aber auf eine viel bemerkenswertere Weise.

Die Flüssigkeit, die man in den Magen eingeführt hat, nachdem das Blut stark hypertonisch gemacht worden war, bleibt darin eingeschlossen infolge eines Krampfes des Pylorus, und zwar so fest, daß es uns einige Male, nachdem wir den Magen aus dem Abdomen des Tieres herausgezogen hatten, nicht einmal durch den Druck der Hand gelungen ist, die Zusammenziehung des Pylorus zu überwinden und ihn in den Darm hineinzubringen. Welches die Ursache dieses Krampfes des Pylorus ist, können wir einstweilen noch nicht sagen; indessen berechtigen die Resultate dieser letzten Experimente uns zu der Annahme, daß die Resorption des Wassers von seiten des Magens gar nicht in Frage kommt. Die Flüssigkeit war ja eine lange Zeit hindurch im Magen eingeschlossen, nachdem das Blut stark hypertonisch gemacht worden war, und es wurden nur unbedeutende Mengen Wasser resorbiert. Wird das Experiment unter den erwähnten Bedingungen lange fortgesetzt, so gibt das Tier zuletzt die im Magen enthaltene Flüssigkeit durch den Mechanismus des Erbrechens wieder von sich.

Es kann leicht sein, daß die Erhöhung der molekularen Konzentration des Wassers, das in den Magen eingeführt wurde, nachdem man das Blut hypertonisch gemacht hatte, von einer wahren Sekretion des Magens herrührt, da man findet, daß das Wasser nach einer gewissen Zeit des Verweilens im Magen stark sauer ist.

Die durch diese letzten Untersuchungen erhaltenen Resultate beweisen deutlich, daß das Tier, nachdem das Blut hypertonisch gemacht und eine hypotonische Flüssigkeit in den Magen eingeführt

worden ist, statt das Wasser zu resorbieren und so das Blut zu verdünnen, Salzsäure und ohne Zweifel Chloride an die im Magen enthaltene Flüssigkeit abgibt. Auf diese Weise vermindert es die molekulare Konzentration der zirkulierenden Flüssigkeiten, und dann tritt die Flüssigkeit entweder in den Darm über und wird darin resorbiert, oder das Tier entledigt sich derselben durch Erbrechen.

Das nach Herabsetzung oder Erhöhung der molekularen Konzentration des Blutes direkt in den Darm eingeführte Wasser wird gleichfalls resorbiert, und in beiden Fällen nehmen sowohl die molekulare Konzentration als auch die elektrische Leitfähigkeit des Blutserums ab. Die nach Einführung von Wasser in den Darm eintretende Abnahme von $\Delta$ und $K$ des Blutserums ist eine viel schnellere und bemerkenswertere als diejenige, welche bei Einführung von Wasser in den Magen erfolgt, nachdem man zuvor das Blut hypertonisch gemacht hat.

Im ersten Falle wird, da das Wasser resorbiert wird, die Wiederherstellung der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes erleichtert; im zweiten Falle treten, da das Wasser vom Magen nicht resorbiert wird, andere Mechanismen (die den Geweben Wasser entziehen?) in Tätigkeit, um die Wiederherstellung normaler Bedingungen im Blute zu versuchen.

Intravasculäre Injektionen von hypertonischen Lösungen veranlassen eine Sekretion des Darmrohrs, die zunächst die Einführung des Wassers in den Darm verhindert und eine gewisse Zeitlang dessen Resorption erschwert. Dies haben wir deutlich bei dem 10. Experiment beobachtet, bei dem wir während der intravenösen Injektion von 10prozentiger NaCl-Lösung, die wir vornahmen, nachdem wir unter Anwendung der zuvor beschriebenen Technik eine Kautschuksonde entsprechend dem Pylorus befestigt hatten, sahen, wie aus dem entgegengesetzten Ende der Röhre eine dicke gelbliche Flüssigkeit von alkalischer Reaktion hervorquoll, die ganz das Aussehen des Darmsaftes hatte. Allerdings war das gefundene $\Delta = 0°,825$, d. h. viel höher als das von Hamburger und Hekma[1]) ($\Delta = 0°,620$), sowie das von Falloise[2]) ($\Delta = 0°,600$) gefundene; aber man darf nicht ver-

[1]) Hamburger et E. Hekma, Sur le suc intestinal de l'homme. Journ. de Physiol. et Pathol. gén. **4**, 805, 1902.

[2]) Falloise, A., Origine sécrétoire du liquide obtenu par énervation d'une anse intestinale. Arch. Intern. Physiol. **1**, 261, 1904.

gessen, daß bei unserem Experiment die molekulare Konzentration des Blutes ganz enorm erhöht worden war.

## V. Schlußfolgerungen.

I. Purgiermittel und Hungern schwächen beim Tiere die den osmotischen Druck der zirkulierenden Flüssigkeiten regulierenden Kräfte.

II. Nach intravasculären Injektionen von hypotonischen NaCl-Lösungen geht das direkt in den Magen eingeführte Trinkwasser in den Darm über und wird resorbiert.

III. Nach intravasculären Injektionen von hypertonischen NaCl-Lösungen wird das direkt in den Magen eingeführte Trinkwasser weder von der Mucosa des Magens resorbiert noch geht es in den Darm über.

IV. In welchem Sinne auch die molekulare Konzentration des Blutes eine Änderung erlitten hat, das direkt in den Darm eingeführte Trinkwasser wird resorbiert, und es nehmen die molekulare Konzentration sowie die elektrische Leitfähigkeit des Blutserums entsprechend ab.

# Zur Frage des Albumosengehaltes des Blutes.

Von

**Ernst Freund.**

(Aus dem Chemisch-pathologischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung" Wien.)

*(Eingegangen am 11. November 1907.)*

Seit einer Reihe von Jahren ist der alte Streit darüber, ob im Blute Albumosen vorkommen, in ein neues Stadium getreten.

Gegenüber einer ganzen Reihe von Autoren, die positive Befunde von Albumosen machten, hat Abderhalden angegeben, niemals Albumosen im Blute gefunden zu haben. Der Weg allerdings, den Abderhalden und Oppenheimer[1]) eingeschlagen haben, schließt so ziemlich von vornherein aus, daß sie jene geringen Mengen von Albumosen finden konnten, um die es sich im Blute handelt.

Schon die Untersuchungen des Blutes aus den 40er Jahren des vorigen Jahrhunderts ließen aus der Zusammenstellung des Eiweißtrockengewichtes und der Gesamttrockenrückstände abzüglich der Asche erkennen, daß es sich nur um geringe Spuren von nicht koagulierbaren Substanzen im Blute handeln könne.

Auch zur Resorptionszeit der Nahrung aus dem Darm kann der zu erwartende Zuwachs N-haltiger Substanz nur Zentigramme in 100 ccm Blut betragen. G. von Bergmann und Langstein[2]) haben dies speziell ausgerechnet. Abderhalden und Oppenheimer verdünnen vor allem das Plasma mit dem 10fachen Volumen 10prozentiger Kochsalzlösung, säuern mit Essigsäure schwach an, kochen auf und untersuchen dieses nicht eingeengte

---

[1]) Abderhalden und Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 153.

[2]) v. Bergmann und Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 27, 1905.

Filtrat auf Biuretreaktion mit negativem Erfolge. Der zu erwartende Gehalt des Plasmas an Albumosen beträgt ca. 0,2%.

Durch die Verdünnung des Plasmas mit dem 10fachen Volumen Kochsalzlösung entsteht eine 0,02prozentige Lösung und diese wird bei der Biuretprobe vielleicht noch auf die Hälfte verdünnt. Das sind Verdünnungen, die an oder jenseits der Empfindlichkeitsgrenze der Biuretreaktion stehen. Da kann ein negativer Befund nicht wundernehmen.

Den negativen Befunden Abderhaldens stehen positive von sechs Autoren gegenüber: Embden und Knoop[1]), Langstein[2]), v. Bergmann und Langstein[3]), Morawitz und Dietschy[4]), F. Kraus[5]) und Freund[6]).

Zwischen den beiden Lagern stehend, wäre noch O. Schumm[7]) zu erwähnen[8]), der allerdings mit einer Methode, bei der das Serum mit schwefelsaurem Ammon gesättigt wurde und der Niederschlag 2 Monate lang unter Alkohol stehen gelassen wurde, nur bei einem Falle von Nephritis, nicht aber bei einer perniziösen Anämie und einem gesunden Manne Albumosen im Blute fand. Das Entscheidende in dieser Frage liegt darin, ob wir eine Reaktion kennen, die nach allgemeinem Dafürhalten als Trennungsmittel des koagulierbaren Eiweißes von Albumosen aufgefaßt wird.

Solche Mittel sind:

1. Sättigung mit Kochsalz, Ansäuern mit Essigsäure und Aufkochen.

2. Fällung mit Zinksulfat.

Eine unbedingt verläßliche Angabe rührt von E. Zunz[9]) her, der in seiner ausführlichen Arbeit über die fraktionierte Abscheidung der peptischen Verdauungsprodukte mittels Zinksulfat

---

1) Embden und Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 1903.

2) Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 1903.

3) v. Bergmann und Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 27, 1905.

4) Morawitz und Dietschy, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **54**, 1906.

5) F. Kraus, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **13**, 1906.

6) E. Freund, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **4**, 1907.

7) O. Schum, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 1904.

8) Es ist bei dieser Zusammenstellung nur der Nachweis der Albumosen in normalem Blute berücksichtigt.

9) E. Zunz, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**, 1899.

angibt, daß Zusatz saurer, kalt gesättigter Zinksulfatlösung bis zu 0,1 Sättigung zu einer mit Schwefelsäure zu 2% angesäuerten Flüssigkeit auch die Reste von Acidalbumin ausfällt.

Knoop und Embden haben diese Angabe von Zunz benützt, ebenso F. Kraus.

In meinen Untersuchungen bin ich so vorgegangen, daß ich zunächst in gewöhnlicher Weise koaguliert und in einem Teil der Filtrate sowohl durch Kochsalzsättigung und Erhitzen, als durch $^1/_{10}$-Sättigung nach der Vorschrift von Zunz mich von der Abwesenheit von Eiweiß und Acidalbumin im Filtrate überzeugt habe.

Neuerdings hat nun Abderhalden[1]) diese Frage mit einer neuen Methodik zu entscheiden gesucht, die von L. Michaelis und P. Rona[2]) zur Enteiweißung von Blutserum angegeben wurde.

Dieselbe beruht auf der Ausfällung von Eiweiß aus seiner Lösung durch Mastix. „Ein Volumen unverdünnten Blutserums wird mit dem 3fachen Volumen absoluten Alkohols versetzt, dazu nach einigen Stunden (oder wenn man den Niederschlag entfernt, sofort) 1 Volumen 50prozentiger Lösung von Mastix in absoluten Alkohol gegeben, dann mit Wasser verdünnt, bis der Alkoholgehalt der Gesamtflüssigkeit höchstens noch 30% beträgt.

Dann wird schwach mit Essigsäure angesäuert und per Liter Flüssigkeit mit etwa 10—15 ccm 10prozentiger Lösung von $MgSO_4$ versetzt. Die eiweißfreie Flüssigkeit kann sofort abfiltriert werden, jedoch ist es vorteilhaft, einige Zeit mit dem Filtrieren zu warten. Spuren von eventuell noch in Lösung befindlichem Mastix trüben, ohne weiter zu stören, das stark eingeengte Filtrat ein wenig.

Eine wie uns scheint noch unvollkommenere Entfernung des Mastix gelingt, wenn man statt $MgSO_4$ die gleiche Menge gesättigte Kupferacetatlösung benützt, wobei man gleichzeitig den Vorteil hat, daß man das Kupfer durch $H_2S$ nachträglich wieder völlig entfernen kann.

---

[1]) Abderhalden, Casimir Frank und E. S. London, Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 269.

[2]) L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. **2**, 219, 1906; **3**, 109, 1907.

Bei eiweißarmen Flüssigkeiten, etwa bis 1/2% Eiweiß, ist die Vorbehandlung mit Alkohol natürlich unnötig.

In diesem Fall fügt man einfach in der mit Essigsäure angesäuerten Flüssigkeit so viel 20prozentige alkoholische Mastixlösung, daß der Alkoholgehalt der ganzen Flüssigkeitsmenge 30% nicht übersteigt, und koaguliert diese Flüssigkeit durch eine geringe Menge Kupferacetat."

Die ganze Anlage der Methode mag für den älteren Analytiker etwas Überraschendes haben.

Dem Analytiker ist der schwer durch Wasser auswaschbare klumpige Eiweißniederschlag etwas Unerwünschtes, und ihm muß die weitaus größere und für Wasser viel undurchlässigere Masse der Mastixfällung um so unangenehmer erscheinen und die Furcht wachrufen, daß nicht nur die koagulierbaren Eiweißsubstanzen, sondern auch andere schwerer lösliche Substanzen zurückgehalten werden. Tatsächlich haben nun Michaelis und Rona[1]), nachdem sie zuerst die Methode als Enteiweißungsmethode publiziert hatten, in einer zweiten Publikation sich erst die Frage vorgelegt:

Werden Albumosen usw. bei der Mastixfällung mitgefällt oder bleiben sie im Filtrat?

Erst durch diese Entscheidung wäre ja die Berechtigung zu gewinnen gewesen, diese Methode als Enteiweißungsmethode anzusehen.

Tatsächlich hat sich nun den Autoren ergeben, daß durch den Mastix nur höhere aussalzbare Albumosen gefällt werden, und es sind zwar alle durch Mastix fällbaren Albumosen aussalzbar, aber nicht alle aussalzbaren Albumosen durch Mastix fällbar".

Nach gewöhnlichen Begriffen wäre die Methode weder als Enteiweißungsmethode zu verstehen, weil sie Albumosen mitfällt, noch als Eiweißalbumosenfällung, weil sie eben nicht alle Albumosen fällt.

Das ist nun die Methodik, deren sich Abderhalden bedient, um im Blutserum nachzusehen, ob Albumosen vorhanden sind.

„Für unsere Versuche[2]) war es sehr wichtig, auch die letzten Spuren von Eiweiß zu entfernen. Hier kam uns eine sehr treff-

---

[1]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **3**, 1, 109.

[2]) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 2, 285.

liche Methode zu Hilfe, die kurz vor dem Beginn unserer Versuche von den Herren L. Michaelis und P. Rona ausgearbeitet worden war.

Sie beruht auf der Ausfällung von Eiweiß aus seiner Lösung durch Mastix.

Wir hielten uns genau an die von den genannten Forschern gegebenen Vorschriften. Eine Modifikation war nur insoferne angebracht, als wir den Alkoholzusatz stark vermindern konnten, weil wir die weitaus größte Eiweißmenge schon durch Koagulation entfernt hatten.

Wir verarbeiteten 500 ccm des Eiweißfiltrates. Nach Zusatz der Mastixmilch trat auf Zugabe einiger Tropfen von 10 prozentiger Essigsäure und einer 10 prozentigen Lösung von Kupferacetat bald Fällung ein.

Der Niederschlag wurde sofort abfiltriert, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und wieder filtriert.

Das Filtrat dampften wir nun unter vermindertem Druck auf etwa 400 ccm ein. Sämtliche Reaktionen auf Eiweiß fielen negativ aus, vor allem ließ sich auch nicht die Spur einer Biuretreaktion feststellen."

Im nachfolgenden seien zunächst zwei Versuche angeführt, die ich nach den Angaben von Michaelis und Rona ausgeführt habe.

### 1. Versuch.

50 ccm einer 5 prozentigen Peptonlösung (bei neutraler Reaktion aufgekocht und filtriert) wurden mit 50 ccm einer 50 prozentigen alkoholischen Mastixlösung versetzt, mit Wasser auf 150 ccm verdünnt, mit Essigsäure schwach angesäuert, 1,5 ccm 10 prozentiger Essigsäure-Kupferlösung zugesetzt und filtriert.

Der Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde auf ein Volumen von 200 ccm gebracht und ein Viertel davon kjeldahlisiert $= 20{,}9 \times 4 = 83{,}6$ ccm $^1/_4$ n-Lauge. In 50 ccm der Peptonlösung ist N $= 135$ ccm $^1/_4$ n-Lauge.

Der Mastixrückstand wurde mit Chloroform extrahiert und der in Chloroform unlösliche Teil wurde ausgekocht, filtriert und das Filtrat kjeldahlisiert $= 13$ ccm $^1/_4$ n-Lauge. **Es ergibt sich somit ein Verlust an Albumosen entsprechend** $= 3{,}84$ ccm $^1/_4$ **n-Lauge** $= 28{,}4\%$ **der Substanz.**

## 2. Versuch.

10 ccm einer 5 prozentigen Peptonlösung (die bei neutraler Reaktion aufgekocht und filtriert wurde) wurden mit 10 ccm Albumin und 10 ccm einer 50 prozentigen alkoholischen Mastixlösung versetzt, auf 60 ccm verdünnt mit Wasser, mit Essigsäure schwach angesäuert und 0,6 ccm einer 10 prozentigen Kupferacetatlösung zugesetzt und filtriert. Der Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde auf ein Volumen von 200 ccm gebracht und ein Viertel davon kjeldalisiert $= 5{,}4 \times 4 = 21{,}6$ ccm $^1/_4$ n-Lauge. In 10 ccm der Albuminlösung ist N in unkoagulierbarer Form $= 10{,}4$ ccm $^1/_4$ n-Lauge. In 10 ccm Peptonlösung ist N $= 27{,}0$ ccm $^1/_4$ n-Lauge.

Der Mastixrückstand wurde mit Chloroform extrahiert, der in Chloroform unlösliche Teil koaguliert und das Filtrat kjeldahlisiert $= 2{,}0$ ccm $^1/_4$ n-Lauge.

Es ergibt sich somit ein Verlust an Albumosen entsprechend $= 14{,}4$ ccm $^1/_4$ n-Lauge $= 37{,}5\%$ der Substanz.

Allerdings hat Abderhalden die Möglichkeit der Albumosenfällung durch Mastix auch berücksichtigt; er schreibt:

„Um eventuell bei der Mastixfällung[1]) mitgerissene Produkte zu gewinnen, wurde nach den Mitteilungen von Rona und Michaelis der Niederschlag im Soxhlet 3 Stunden mit Chloroform extrahiert und der geringe Rückstand mit Wasser ausgekocht.

Die Auskochung ergab keine Spur einer Biuretreaktion. Sogenannte Albumosen waren jedenfalls in keinem Falle nachweisbar."

Zur möglichst objektiven Beurteilung der Sachlage will ich gar nicht die Resultate meiner vorher ausgeführten Kontrollversuche berücksichtigen, sondern nur die Angaben, die in der Mitteilung von Michaelis und Rona selbst enthalten sind.

„Erst[2]) im Laufe der Untersuchungen lernten wir die Notwendigkeit erkennen, auch die allerletzten Reste des Mastix aus dem Niederschlag zu entfernen; minimale Rückstände des Mastix erschweren die Extraktion mit Wasser ungemein." Die Autoren geben als Mittel einen Verlust von 15% Albumosen an.

---

[1]) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 286.

[2]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **3**, 112. 1907

Aus einzelnen ihrer Bestimmungen resultiert aber ein Verlust von 20%.

Der absolute Wert an Albumosen, der bei dieser Methodik den Autoren verloren geht, enthält ca. 0,04—0,05 g N.

Das ist nun aber gerade jene Größe an Albumosen, die im Blute von den verschiedensten Autoren gefunden wurde.

Es würde sich nun fragen: wieviel Blut hat Abderhalden untersucht?

Darauf kann man nun leider keine Antwort geben; Abderhalden hat diese Kontrolle unmöglich gemacht.

In der ganzen Arbeit ist nicht zu finden, in wieviel Blut er den Nachweis von Albumosen versucht hat.

Nachdem bei den einzelnen Versuchen lediglich angegeben ist, daß die Hunde entblutet wurden, heißt es dann auf S. 284: „Zur Entscheidung der ersten Frage (enthält das Blut Eiweißabbauprodukte, sogenannte Albumosen, Pepton, Aminosäuren?) benützten wir das Filtrat der durch Koagulation des Plasmas abgeschiedenen Eiweißkörper“, und dann später: „Wir verarbeiteten 500 ccm des Eiweißfiltrates.“

War dieses Filtrat ebenso enteiweißt wie in den ersten Arbeiten Abderhaldens, und entsprach es daher nur ca. 50 ccm Blut, oder entsprach es mehr Blut?

Aus der Arbeit Abderhaldens erfährt man es nicht und ist daher ganz außer Lage zu beurteilen, ob nicht die nachgewiesenen Fehlerquellen seiner Methodik größer waren als die überhaupt möglicherweise zu findenden Albumosenwerte.

Zu diesen von den Autoren selbst angegebenen Fehlerquellen kommen noch solche, deren Bedeutung von den Autoren übersehen wird.

Kupferacetatlösung ist — wie man sich jederzeit leicht an einer Witte-Peptonlösung überzeugen kann — ein Albumosenfällungsmittel.

Die Fällung wird nur bei starkem Essigsäuregehalt und Überschuß des Kupferacetats aufgehoben; da nun in der Vorschrift der Autoren nur von schwacher Ansäuerung und von einem Zusatz von 1—1,5 ccm pro 100 ccm Flüssigkeit gesprochen wird, ist noch hierbei eine Möglichkeit von Fehlern gegeben. Wie dem auch sein mag, die benützte Methode ist eine derartige, daß sie auch nach den Angaben ihrer Autoren 20% Fehler ergibt,

und es erscheint demnach vollkommen unzulässig, Schlüsse auf das Fehlen von Albumosen im Blute zu ziehen. Wenn es aber überhaupt noch nötig erachtet wurde, so ist ein ganz einwandsfreier Nachweis solcher Albumosen durch eine Arbeit Borchardts erbracht worden. Borchardt[1]) hat die Frage, ob Albumosen der Nahrung in den Organismus aufgenommen werden, dadurch zu entscheiden gesucht, daß er Hemi-Elastin, das ebenso wie dessen Albumosen eine spezifische Reaktion gibt (Niederschlag beim Kochen, der sich beim Erkalten wieder löst), dem Organismus enteral einführte und fand: „Das mit der Nahrung aufgenommene Hemi-Elastin ist im Blut und einigen Organen auf der Höhe der Verdauung in unverändertem Zustande in Spuren wieder zu finden. Damit ist zugleich das Vorkommen von Albumosen im Blut, die der Nahrung entstammen, erwiesen.“ Diese Arbeit ist im 51. Bd. der Zeitschr. f. physiol. Chem. erschienen, 29. Mai 1907.

Es bleibt unverständlich, daß Abderhalden bei seiner mangelhaften Methodik sich berechtigt glaubt, Angaben, die mit unanfechtbaren Methoden gemacht sind, nicht zu berücksichtigen, und in einer Arbeit, „Weitere Beiträge zur Frage nach der Verwertung von tief abgebautem Eiweiß im Organismus des Hundes, im 52. Bd. der Zeitschr. f. physiol. Chem., 5 u. 6 (3. August 1907) auf S. 512 schreibt: „Es ist wenigstens bis jetzt nicht gelungen, Eiweißabbauprodukte im Plasma selbst auf der Höhe der Verdauung mit Sicherheit nachzuweisen.“

Richtiggestellt müßte es heißen:

Sieben Autoren haben mit einwandsfreien Methoden geringe Mengen Albumosen im Blute nachgewiesen, nur Abderhalden ist es nicht gelungen, mit einer Methode, die 20% des Albumosen-N Verlustbreite hat, den vorhandenen Albumosen-N-Wert von 0.04% des Blutes aufzufinden.

---

[1]) L. Borchardt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 6, 506.

# Untersuchungen über die Bedingungen der Lösung und der Fällung der Harnsäure im Harn.

Von

**Dr. med. Determeyer,**
Herzogl. Brunnenarzt,

und

**Dr. phil. Wagner,**
Leiter des Laboratoriums.

(Aus dem Herzoglich Plessischen Laboratorium zu Bad Salzbrunn.)

*(Eingegangen am 12. November 1907.)*

Trotz zahlreicher Arbeiten sind die Bedingungen, unter denen die Lösung und Abscheidung der Harnsäure einerseits im normalen, andererseits in dem durch Alkalizufuhr, z. B. Trinken alkalischer Mineralwässer, beeinflußten Harn erfolgt, durchaus noch nicht vollständig aufgeklärt.

Wir haben es uns daher zu unserer Aufgabe gemacht, diese Bedingungen zu studieren, und glauben durch unsere im folgenden niedergelegten Untersuchungen zur Kenntnis der sich dabei abspielenden Vorgänge einen wesentlichen Beitrag geliefert zu haben.

Das Prinzip unserer Arbeit beruht darin, daß wir die festen Bestandteile des Harns nach einer jede Zersetzung nach Möglichkeit ausschaltenden Methode in einzelne Körpergruppen zerlegten und deren Lösungen teils getrennt, teils in verschiedenen Kombinationen auf ihre Lösungsfähigkeit gegenüber der Harnsäure untersuchten.

Das Verhalten der erwähnten Lösungen, ebenso wie dasjenige des Harns, wurde durchweg in folgender Weise geprüft: 125 ccm Flüssigkeit wurden in einem Becherglase auf 37° erwärmt, und unter Zusatz bestimmter Mengen chemisch reiner Harnsäure mittels eines mechanischen Rührwerks (Rabesche Turbine) eine Stunde lang gleichmäßig gerührt, wobei die Temperatur durch ein Wasser-

bad oder ein kleines Flämmchen konstant erhalten wurde. Hierauf wurde der Überschuß der zugesetzten Harnsäure abfiltriert und im Filtrat die gelöste Harnsäure bestimmt. Außerdem wurde in der ursprünglichen Flüssigkeit — ohne Harnsäurezusatz — die Harnsäure bestimmt. Die Differenz beider Bestimmungen zeigte dann an, wieviel von der zugesetzten Harnsäure in Lösung gegangen war, oder wieviel von der ursprünglich gelösten Harnsäure ausgefallen war, je nachdem die erste Bestimmung größer ausfiel, wie die zweite oder umgekehrt. Wir hatten also im ersten Falle den Grad der Lösungsfähigkeit, im zweiten den Grad der Übersättigung festgestellt.

Eine Schwierigkeit bestand in der Auswahl einer geeigneten Methode zur Bestimmung der Harnsäure. Da es sich um eine große Anzahl von Untersuchungen handelte, die bei der leichten Zersetzlichkeit des Materials möglichst rasch auszuführen waren, so unternahmen wir es zunächst, unter den uns zugänglichen Methoden durch vergleichende Untersuchung mit derjenigen nach Ludwig-Salkowski die für uns zweckmäßigste ausfindig zu machen. Die genannte ist zwar die gebräuchlichste und eine wissenschaftlich anerkannte, macht es aber vermöge der umständlichen Manipulationen des Auswaschens der voluminösen Niederschläge, Zersetzens mit Schwefelalkali usw., unmöglich, eine größere Anzahl von Bestimmungen an einem Tage auszuführen. Zudem sind auch hier Fehlerquellen durch Zersetzung oder Mitreißung nicht ganz ausgeschlossen.

Die Ruhemannsche Jodadditionsmethode ließen wir, als für wissenschaftliche Untersuchungen nicht brauchbar, außer Betracht.

Die Methode von Heintz, bei welcher die Harnsäure durch einen großen Überschuß von Salzsäure nach 24stündigem Stehen im Kühlen ausgefällt werden soll, erwies sich als unbrauchbar, weil zu geringe Resultate gebend.

Die Methode von Meisenburg, welche darauf beruht, daß Harn mit Salzsäure angesäuert, unter Zusatz von etwas freier Harnsäure 48 Stunden geschüttelt wird, hat bezüglich der leichten Ausführbarkeit schon wegen der langen Zeitdauer vor der Ludwig-Salkowskischen nichts voraus.

Die Hopkinssche Methode: Ausfällen der Harnsäure als Ammonurat durch Sättigen mit Ammonchlorid, Zersetzen des ausgefällten Urates mit Salzsäure und Umkrystallisieren aus Salzsäure, liefert gute Resultate, ist indessen kaum weniger umständlich wie Ludwig-Salkowski.

Etwas einfacher und ebenso brauchbar erwies sich die Wörnersche Modifikation der Hopkinsschen Methode. Hierbei wird der Ammonuratniederschlag durch Erwärmen mit Natronlauge von Ammoniak befreit, nach Kjeldahl zerstört und aus dem ermittelten N-Gehalt die Harnsäure berechnet.

Schließlich stellten wir noch vergleichende Untersuchungen an mit der von Folin modifizierten Hopkinsschen Methode, welche nach

E. Schmidt ebenso genaue Resultate gibt wie Ludwig-Salkowski[1]). Die Harnsäure wird hierbei durch Ammonsulfat unter Zusatz von Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion — als Ammonurat — gefällt. Der Niederschlag wird mit Ammonsulfatlösung chlorfrei gewaschen, in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit $^1/_{20}$ n-$KMnO_4$-Lösung warm titriert.

Auf die Möglichkeit, Harnsäure mit Kaliumpermanganat zu titrieren, weisen schon Blarez und Denigès hin (Compt. rend. **104**, 789, 1887). Nach ihrer Angabe wird 1 ccm $^1/_{10}$ n-$KMnO_4$-Lösung durch 7,4 mg Harnsäure zersetzt. Hopkins gibt an, daß 1 ccm $^1/_{20}$ n-$KMnO_4$-Lösung 3,75 mg Ur, v. Ritter, daß 1 ccm $^1/_{20}$ n-$KMnO_4$-Lösung 3,61 mg Ur anzeige. Wir haben diese Angaben nachgeprüft und gefunden, daß sie sämtlich nicht ganz zutreffen, insofern, als die Menge des verbrauchten n-$KMnO_4$ dem Harnsäuregehalt nicht genau proportional ist. Größere Mengen Ur verbrauchen verhältnismäßig weniger n-$KMnO_4$ wie kleinere. Wir haben deshalb darauf verzichtet, die n-$KMnO_4$-Lösung genau $^1/_{20}$-normal einzustellen, sondern haben den Titer einer ungefähr $^1/_{20}$ n-$KMnO_4$-Lösung gegen gewogene Mengen reiner in Schwefelsäure gelöster Harnsäure in bestimmten Abstufungen festgestellt. In dieser Abänderung ergab die Methode sehr gute Resultate und ermöglichte ein schnelles Arbeiten, so daß wir sie ausschließlich bei unseren Untersuchungen benutzten.

Selbstverständlich haben wir jede Bestimmung mindestens doppelt ausgeführt und nur bei guter Übereinstimmung gelten lassen.

## I. Teil.

### Versuche zur Trennung der im Harn gelösten Substanzen in organische und anorganische.

Wie eingangs erwähnt, gingen wir darauf aus, die festen Bestandteile des Harns in einzelne Körpergruppen zu zerlegen und mit den so gewonnenen Substanzen bzw. deren Lösungen Versuche über die Lösungsfähigkeit gegenüber Harnsäure anzustellen. Es mußte sich bei diesen Experimenten zeigen, ob die Lösung durch die organischen oder die anorganischen Bestandteile, oder durch das Zusammenwirken beider bewirkt wird, bzw. welchen Einfluß ein Zusatz der einen Körpergruppe auf die Lösungsfähigkeit der anderen hat. Die Isolierung der anorganischen Bestandteile scheint zunächst sehr einfach; man braucht den Harn nur zu veraschen. In Wirklichkeit gestaltet sich diese Aufgabe indessen durchaus nicht so leicht, und zwar deshalb, weil einerseits das reichlich vorhandene Chlornatrium sich schon bei

[1]) Siehe bei Ernst Schmidt, Ausführl. Lehrb. der pharmazeut. Chem. 1901, II. Teil, 812.

relativ geringer Hitze verflüchtigt, andererseits, weil stickstoffhaltige Kohle sehr schwer verbrennt. Um die für die Lösungsversuche zunächst erforderliche Mindestmenge von Asche aus 100 ccm Harn darzustellen, brachten wir in vier Platinschalen je 25 ccm Harn, dampften ein, verkohlten möglichst weitgehend, dann extrahierten wir die leicht löslichen Salze, eine jede Portion für sich, brachten den Rückstand auf ein aschefreies Filter und veraschten schließlich den Rest der Kohle samt Filter bei höherer Temperatur. Die Arbeit nahm zuweilen beinahe zwei Tage in Anspruch. Die durch Veraschung gewonnenen Mineralbestandteile wurden in destilliertem Wasser gelöst und auf das gleiche Volumen aufgefällt, als die Harnmenge betrug, in der sie ursprünglich gelöst waren, in unserem Falle 100 ccm. Diese Lösung wurde kurzweg als Aschelösung bezeichnet.

Hierbei durften wir freilich nicht übersehen, daß die durch Veraschung gewonnenen Mineralbestandteile doch nicht ganz unverändert geblieben waren. Bei Glühhitze finden Umsetzungen der Salze statt, die Ammonsalze verflüchtigen sich, Alkali und Erdalkalisalze der organischen Säuren treten als Carbonate bzw. Oxyde auf. Trotzdem können wir annehmen, daß die anorganischen Bestandteile im großen und ganzen in derselben Form erhalten bleiben, wie im ursprünglichen Harn. Weit schwieriger wie die Gewinnung der anorganischen Bestandteile war die Abtrennung der organischen Stoffe. Um diese durchführen zu können, schlugen wir folgenden Weg ein, welcher unseres Wissens bisher noch nicht verfolgt wurde. Wir sagten uns, wenn wir das Wasser aus dem Harn entfernten und somit ein trockenes Gemenge der organischen und anorganischen Bestandteile erhielten, so mußte es vielleicht möglich sein, durch bestimmte, in der organisch-synthetischen Chemie gebräuchliche Lösungsmittel die organischen Bestandteile ganz oder teilweise zu lösen, während die anorganischen Salze zurückbleiben. Die erste Schwierigkeit, nämlich den Harn ohne Zersetzungen einzudampfen, überwanden wir, indem wir im Vakuum (15—20 mm b) im indifferenten Gasstrom arbeiteten.[1])

---

[1]) Unser Apparat bestand aus zwei gläsernen Halbkugeln, welche durch Glasschliffe genau aufeinander paßten. Die untere Halbkugel ruhte auf einem warmen, aber nicht siedenden Wasserbade. Die obere besaß einen Tubus zur Aufnahme eines Vorstoßes. Dieser diente einerseits der Zuführung eines indifferenten Gasstroms (zuerst Kohlensäure, später Leucht-

Hierbei blieb eine dickflüssige, krystallinische, gelbbraune Masse zurück, die kein Wasser mehr abgab. Bei den Versuchen, aus dieser Masse durch organische Lösungsmittel etwas in Lösung zu bringen, zeigte es sich, daß die meisten niedrigsiedenden für unsere Versuche nicht brauchbar waren. Benzol, Ligroin, Äther, Chloroform, Essigäther lösten fast gar nichts. Hochsiedende durften wir nicht verwenden, um die Gefahr einer Zersetzung der zum Teil ja recht labilen Harnbestandteile zu vermeiden. Dagegen ließ sich durch absoluten Alkohol ein Teil der organischen Bestandteile extrahieren. Die Extraktion erfolgte in der Weise, daß wir den Abdampfrückstand des Harns im Porzellanmörser mit kleinen Portionen des etwas erwärmten Alkohols (+ 10% Äther) verrieben und die Masse samt Lösungsmittel schließlich in ein Becherglas überführten. Zur Extraktion wurden für den Abdampfrückstand eines Liters Harn ca. 200 ccm Alkohol absolutus verbraucht. Die Masse blieb über Nacht stehen, worauf die klare goldgelbe alkoholische Lösung abfiltriert wurde, während der Rückstand noch mit 50 ccm Alkohol (+ Äther) ausgewaschen wurde. Die alkoholischen Flüssigkeiten wurden im Vakuum im $CO_2$-Strom abgedampft. Der Abdampfrückstand erstarrte zu einer festen krystallinischen braunen Masse von stark saurer Reaktion. Wir nennen dieses alkoholische Extrakt: Extrakt a.

Der im Becherglase nach dem Abgießen der alkoholischen Lösung zurückgebliebene Bodensatz stellte noch immer eine schmierige Masse dar, welche allen Lösungsversuchen den größten Widerstand entgegensetzte. Wir versuchten nun mit Äther zu extrahieren, gewannen dabei aber nur etwas Harnstoff. Nach langen Versuchen fanden wir schließlich, daß durch Behandlung mit einer Lösung von Ammoniakgas in Alkohol absolutus eine weitere reichliche Extraktion erzielt werden konnte. Wir brachten deshalb die Masse in einen Soxhletschen Extraktionsapparat und extrahierten zwölf Stunden. Hierbei machten wir aber die Wahrnehmung, daß das gewonnene Extrakt Zersetzungen erlitt. Dies veranlaßte uns bei dem späteren Versuche, die ammoniakalisch-

gas, welches mit $H_2O$ und $H_2SO_4$ gewaschen wurde), andererseits zur Abführung des verdampfenden Wassers, welches in einem Liebigkühler kondensiert wurde und von dort in eine Kugelvorlage gelangte. Zum Evakuieren diente eine Wasserstrahlluftpumpe nach Finkener mit Quecksilbermanometer, Rückschlagventil usw.

alkoholische Extraktion mit lauwarmer Flüssigkeit unter Verreiben im Porzellanmörser vorzunehmen. Auch diese Extraktionsflüssigkeit wurde wieder im Vakuum eingedampft. Es stellte im ersten Falle (heiße Extraktion) eine dunkelbraune, bei den anderen Versuchen gelbbraune, krystallinische, halbflüssige Masse von saurer Reaktion dar. Wir nennen es Extrakt b.

Das von den Extraktionen Zurückgebliebene war eine gelbliche, trockene Masse von stark alkalischer Reaktion. Wir nennen sie Rückstand = R.

Rückstand R löste sich leicht, aber nicht vollständig in Wasser. Die bei weitem größte Menge ging in Lösung — eine gelblich gefärbte Flüssigkeit —, während eine geringe Menge beim Abfiltrieren auf dem Filter unlöslich zurückblieb und eine leichte voluminöse Masse — V — darstellte. Dieser Rückstand mußte die überwiegende Menge der anorganischen Bestandteile enthalten, da die meisten organischen Verbindungen extrahiert waren.

Spätere Untersuchungen lehrten jedoch, daß das alkoholische Ammoniak nicht unerhebliche chemische Einwirkungen auf die zu extrahierende Substanz hatte. Wir haben deshalb bei den weiteren Versuchen auf die ammoniakalisch-alkoholische Extraktion verzichtet, und es ist uns gelungen, durch die alkoholische Extraktion allein die Trennung der organischen Bestandteile zu erzielen.

I. Der zunächst untersuchte Harn stammte von einem Gesunden, der relativ wenig Flüssigkeit zu sich nahm. In $2^1/_2$ Tagen waren 2200 ccm Urin abgegeben worden. Derselbe war von stark saurer Reaktion.

| | |
|---|---|
| Spezifisches Gewicht . . . . . . . . . . . | 1,0306 |
| Harnsäuregehalt . . . . . . . . . . . . . | 0,0816% |
| davon freie Harnsäure . . . . . . . . . . | 0,0049%. |

Untersuchung der Asche:

100 ccm Harn wurden verascht und ergaben 0,19 g Mineralbestandteile. Diese wurden mit Wasser auf 100 ccm gebracht. Die Lösung war trübe und reagierte stark alkalisch. Dieselbe wurde mit 0,2 g Ur 1 Stunde lang geschüttelt (37°). Es wurden gelöst 0,1632 g.

Der Harn wurde zur Trockne verdampft und in der oben beschriebenen Weise extrahiert.

Untersuchung von Extrakt a (alkoholisch):

Extrakt a stellt eine krümelige, goldbraune, krystallinische Masse von harnartigem Geruche dar. Ihre wässerige Lösung reagiert stark sauer. Aus 1 l Harn wurden 27,6 g Extrakt a erhalten.

Wir prüften das Verhalten der Extrakt a-Lösung gegen Uratlösung. Es zeigte sich, daß die 0,2prozentige Uratlösung durch konzentrierte a-Lösung sofort, durch verdünnte nach kurzer Zeit gefällt wurde. Dieser Niederschlag wurde gelöst durch Zusatz von:

Salzbrunner Oberbrunnen,
Sodalösung,
Kalkwasser,
Dinatriumphosphat.

Dagegen nicht gelöst von:

Calciumbicarbonat,
Mononatriumphosphat.

Untersuchung von Extrakt b (ammoniakalisch-alkoholisches):

Extrakt b stellte eine dunkelbraune, krümelige Masse dar, in welcher einzelne Bestandteile durch die bei der Extraktion angewandte Wärme Zersetzung erlitten hatten. Das Extrakt roch deutlich nach Benzoesäureäthylester, offenbar entstanden durch Zersetzung der Hippursäure, welche in Benzoesäure und Glykokoll zerlegt worden war, und den zugesetzten Alkohol. Reaktion sauer. Die Untersuchung ergab, daß Ur in kaum nachweisbaren Spuren vorhanden war.

Aus 1 l Harn wurden 11,5 g Extrakt b erhalten.

Ein Teil von b wurde auf das ursprüngliche Volumen des Harns aufgefüllt und mit Ur 1 Stunde lang gerührt. Es ging von der zugesetzten Harnsäure nichts in Lösung.

Untersuchung des Rückstandes der beiden Extraktionen R.

Der nach Behandlung mit Alkohol und ammoniakalischem Alkohol zurückgebliebene Rückstand stellte eine trockene, pulverige, hellbräunliche Masse dar. Dieselbe löst sich leicht in Wasser, bis auf einen geringen Teil, zu einer alkalischen gelbgefärbten Flüssigkeit. Der abfiltrierte lockere Rückstand, den wir V nennen, ist hellbräunlich gefärbt. Die Untersuchung ergibt, daß derselbe aus Magnesiumammoniumphosphat und aus Harnsäure besteht. Der aus 100 ccm Harn gewonnene Rückstand V enthält 0,0469 g Harnsäure.

R wurde in Wasser gelöst, mit Tierkohle behandelt, filtriert und auf das ursprüngliche Harnvolumen aufgefüllt. Diese Lösung mußte nahezu die gesamten anorganischen Verbindungen des Harns enthalten, da der größte Teil der organischen in die Extrakte übergegangen ist.

Sie enthält 0,00674% Harnsäure. Die Lösung wird mit Harnsäure gerührt (1 Stunde, 37°). Nach dem Rühren enthält sie 0,1849% Ur, sie hat also noch 0,1782% Ur gelöst (die Harnasche löste 0,1632%).

Um die Einwirkung von Extrakt a auf die R-Lösung zu prüfen, stellten wir folgenden Versuch an:

a und R wurden in Wasser zur ursprünglichen Konzentration des Harns gelöst und mit Ur gerührt.

| | |
|---|---|
| Die Lösung enthielt vor dem Rühren . . . . . . . . . | 0,00315% Ur |
| „ „ „ nach „ „ . . . . . . . . . | 0,06018% Ur |
| Es waren also in Lösung gegangen . . . . . . . . . . . | 0,05703% Ur |

Was können wir nun aus unseren Beobachtungen schließen? Wir haben, kurz zusammengefaßt, folgendes gefunden:

| | |
|---|---|
| In 100 ccm des ursprünglichen Harns sind enthalten . . | 0,0816 g |
| davon fallen beim Rühren aus . . . . . . . . . . . . | 0,0049 g |
| folglich sind in wirklicher Lösung . . . . . . . . . | 0,0767 g |

Von zugesetzter Ur lösen beim Rühren:

| | |
|---|---|
| 100 ccm Aschelösung (alkalisch) . . . . . . . . | 0,1632 g |
| 100 ccm R-Lösung (alkalisch) . . . . . . . . . | 0,1782 g |
| 100 ccm a-Lösung (sauer) . . . . . . . . . . . | 0 |
| 100 ccm b-Lösung (sauer) . . . . . . . . . . . | 0 |
| 100 ccm R + a-Lösung . . . . . . . . . . . . | 0,0570 g |

Die Lösungen der Mineralbestandteile, wie wir sie einerseits durch Veraschung, andererseits durch Extraktion der organischen Substanzen gewonnen haben, lösen ungefähr das Doppelte der im ursprünglichen Harn enthaltenen Ur-Menge. Die a-Lösung, die ja auf Uratlösungen sogar fällend wirkt, beeinträchtigt auch die Lösungsfähigkeit der R-Lösung ganz erheblich, so zwar, daß die R + a-Lösung nur den dritten Teil von der Ur-Menge löst, wie R-Lösung allein. Es liegt nun folgender Schluß sehr nahe: Die Mineralbestandteile sind es allein, welche die Harnsäure in Lösung bringen und halten. Dagegen sind es organische saure Verbindungen, welche die Harnsäure in Freiheit setzen und ausfällen.

Die weiteren Untersuchungen lehrten aber, daß dieser Schluß doch nicht ohne weiteres Geltung hat, besonders deshalb, weil manche Bestandteile, namentlich die anorganischen, doch nicht ganz unverändert gewonnen werden.

Bei dem folgenden Abschnitt dieses Teils unserer Arbeit wurden die eben beschriebenen Untersuchungen wiederholt, dann aber wurde auch die Rolle, welche die Phosphate bei der Lösungsfähigkeit der einzelnen nach unserer Methode gewonnenen Körpergruppen spielen, studiert.

II. Der jetzt zu untersuchende Harn stammte von einem Gesunden, welcher normale Flüssigkeitsmengen zu sich genommen hatte (Dr. D.). In $2^1/_2$ Tagen waren $3^1/_2$ l produziert worden.

Der Harn besitzt das spezifische Gewicht . . . 1,0181 g
die Reaktion ist sauer.
Der Harnsäuregehalt beträgt in 100 ccm . . . 0,06018 g
Wird der Harn eine Stunde bei 37° mit Ur gerührt,
so gibt er ab . . . . . . . . . . . . . . . 0,00470 g
Dieses ist mithin freie Harnsäure.
Der Gesamtgehalt an Phosphorsäure ($P_2O_5$)
beträgt in 100 ccm . . . . . . . . . . . 0,16700 g
Davon ist gebunden als:
Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . 0,103 g
Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . 0,064 g

### Untersuchung der Asche.

100 ccm Harn wurden verascht und die gewonnenen Mineralbestandteile mit Wasser auf 100 ccm gebracht. Die Lösung wurde filtriert, war klar und farblos und reagierte stark alkalisch. Mit 0,2 g Ur 1 Stunde lang gerührt, löste sie 0,19665 g Harnsäure.

### Untersuchung von Extrakt a.

Extrakt a stellt eine krümelige, goldbraune, krystallinische Masse von harnartigem Geruche dar. Aus 1 l Harn wurden 20,4 g davon erhalten. Die wässerige Lösung reagiert stark sauer. Beim gelinden Erwärmen auf dem Wasserbade schmilzt die bei gewöhnlicher Temperatur feste Masse zu einer dunkelbraunen dicken Flüssigkeit. Eine 0,2% Harnsäure enthaltende Uratlösung wurde durch eine konzentrierte Lösung des Extraktes a nicht sofort (wie durch Extrakt a der I. Untersuchung), wohl aber nach kurzer Zeit reichlich gefällt.

Phosphorsäure war in Extrakt a in minimalen Spuren vorhanden.

### Untersuchung von Extrakt b.

Die Extraktion erfolgte diesmal nicht im Soxhletapparat, sondern, um das Erhitzen zu vermeiden, durch Verreiben des Rückstandes von der Extraktion a im Porzellanmörser mit erwärmtem ammoniakalischen Alkohol. Es wurden auf diesem Wege 3,7 g einer goldbraunen, dickflüssigen Masse von schwach alkalischer Reaktion erhalten. Daß in diesem Falle das Extrakt b schwach alkalisch reagierte, ist wohl folgendermaßen zu erklären: Im Falle I wurde durch Erhitzen im Soxhletapparat das von der Extraktion anhaftende $NH_3$ ausgetrieben, während in diesem Falle $NH_3$ festgehalten wurde. So ist auch wohl zu erklären, daß im Fall I die b-Lösung

keine Harnsäure löste, während dies im Fall II wohl der Fall war. Harnsäure fehlte, ebenso Phosphorsäure. 100 ccm b-Lösung mit Ur gerührt, lösten 0,06786 g Ur.

### Untersuchung von Rückstand R.

Das nach Behandlung mit Alkohol und ammoniakalischem Alkohol Ungelöste stellte eine trockene, pulvrige, hellgelbe Masse dar. Dieselbe ist bis auf einen geringen Teil — V — in Wasser leicht löslich zu einer gelblichen, alkalischen Flüssigkeit. Mit Tierkohle läßt sie sich leicht und vollständig entfärben.

Aus 1 l Harn wurden 11,5 g R gewonnen. Wird diese Menge wieder zu 1 l gelöst, so erhält man eine Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,0052. Der Ur-Gehalt der filtrierten R-Lösung beträgt in 100 ccm 0,05059 g. Mit Ur gerührt lösen 100 ccm außerdem noch 0,15821 g.

Um zu sehen, ob die Entfärbung mit Tierkohle einen Einfluß auf die Lösungsfähigkeit habe, wurde der gleiche Versuch mit entfärbter R-Lösung angestellt.

Der Ur-Gehalt der entfärbten R-Lösung beträgt in 100 ccm 0. Mit Ur gerührt lösen 100 ccm 0,15660 g.

Ein merklicher Unterschied in der Lösungsfähigkeit der entfärbten und nicht entfärbten Flüssigkeit besteht also nicht.

Der Gehalt an Phosphorsäure ($P_2O_5$) beträgt in 100 ccm 0,1470 g
Davon sind gebunden als:

Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 0,1335 g
Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . . . . . . . . . 0,0135 g

### Einfluß von Extrakt a auf die Lösungsfähigkeit von R.

Werden R + a im gleichen Verhältnis wie im ursprünglichen Harn in Wasser gelöst und die Lösung mit Ur gerührt, so lösen 100 ccm dieser Flüssigkeit 0,0784 g Ur.

### Einfluß von Extrakt a + Extrakt b auf die Lösungsfähigkeit von R.

Löst man a + b + R in dem Verhältnis, wie es im ursprünglichen Harn vorliegt, in Wasser, so erhält man eine schwach alkalische Flüssigkeit von spezifischem Gewicht 1,015.

Wird diese Flüssigkeit mit Ur gerührt, so lösen 100 ccm 0,12789 g Ur.

### Lösungsfähigkeit von Extrakt b.

Wird b im ursprünglichen Verhältnis in Wasser gelöst und mit Ur gerührt, so lösen 100 ccm 0,06786 g Ur.

### Untersuchung von V.

V wird abfiltriert von der R-Lösung und durch Eisessig bzw. KOH in Lösung gebracht.

V-Lösung im Harnverhältnis enthält in

| | |
|---|---|
| 100 ccm . . . . . . . . . . . . . | 0,00746 g Ur |
| | 0,02 g $P_2O_5$ |
| Vom ursprünglichen Urin halten gelöst 100 ccm | 0,05548 g Ur |

Es lösen 100 ccm der folgenden Flüssigkeiten:

| | |
|---|---|
| Aschelösung . . . . . . . . . . . . . | 0,19655 g Ur |
| R-Lösung . . . . . . . . . . . . . . | 0,15821 g Ur |
| a-Lösung . . . . . . . . . . . . . . | 0 |
| b-Lösung . . . . . . . . . . . . . . | 0,06786 g Ur |
| R + a-Lösung . . . . . . . . . . . . | 0,0784 g Ur |
| R + a + b-Lösung . . . . . . . . . . | 0,12789 g Ur |

Es enthalten Phosphorsäure in 100 ccm:

| | | Mononatr. | | Dinatr. |
|---|---|---|---|---|
| Harn . . . . . . . . . . | 0,1670 | (0,1030 | + | 0,064) |
| R-Lösung . . . . . . . . | 0,1470 | (0,0135 | + | 0,1335) |
| V-Lösung . . . . . . . . | 0,0200 | | ? | |

Daraus ergibt sich folgendes:

Die Aschelösung löst das $3^1/_2$fache, die R-Lösung das 3fache an Harnsäure, wie der ursprüngliche Harn.

Die a-Lösung beeinträchtigt wiederum die Lösungsfähigkeit der R-Lösung ganz erheblich, indem R + a nur halb soviel löst, wie R allein. Dagegen wirkt die b-Lösung befördernd auf die Lösungsfähigkeit der R + a-Lösung, hebt also den ungünstigen Einfluß von a teilweise wieder auf. Auch löst b allein ungefähr halb soviel Ur, wie R allein.

Die Phosphate verhalten sich dabei folgendermaßen:

Der ursprüngliche Harn enthält Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat ungefähr im Verhältnis von 2 : 1, die R-Lösung dagegen im Verhältnis 1 : 10.

Das Überwiegen des Dinatriumphosphats geht also Hand in Hand mit der größeren Lösungsfähigkeit gegen Ur.

Wie ist aber in unserem Falle diese auffallende Veränderung des Verhältnisses der Mono- und Dinatriumphosphate zustande gekommen?

Obwohl wir das Ammoniak in absolut-alkoholischer Lösung verwandten, und obwohl Natriumphosphate in Alkohol nicht löslich sind, hatte das Ammoniak doch auf das zweifach-saure

**Phosphat gewirkt und es größtenteils in einfach-saures Phosphat verwandelt.**

$$PO \begin{cases} ONa \\ OH \\ OH \end{cases} + NH_4OH = H_2O + PO \begin{cases} ONa \\ OH \\ ONH_4 \end{cases}$$

**Diese Umwandlung geht ebenso leicht vor sich, wie die umgekehrte. Fügt man nämlich zu einer Lösung von Dinatriumphosphat eine selbst nur schwache Säure, z. B. Essigsäure, so verwandelt diese einen Teil des Dinatriumphosphates in die Mononatriumverbindung.**

$$PO \begin{cases} ONa \\ ONa \\ OH \end{cases} + CH_3COOH = PO \begin{cases} OH \\ ONa \\ OH \end{cases} + CH_3COONa,$$

## Welche Rolle spielen die Phosphate bei der Lösungsfähigkeit des Harns?

Der zu untersuchende Harn (Dr. W. v. 7. Januar 1907) besitzt ein spezifisches Gewicht von 1,028 g; die Reaktion ist stark sauer; der Harnsäuregehalt beträgt 0,07134 g in 100 ccm.

Wird der Harn eine Stunde bei 37° mit Ur gerührt, so gibt er ab 0,02958 g in 100 ccm.

In wirklicher Lösung befinden sich also 0,04176 g.

Der Gesamtgehalt an Phosphorsäure ($P_2O_5$) beträgt 0,2750 g in 100 ccm.

Davon ist gebunden als:

Mononatriumphosphat . . . . . 0,1625 g
Dinatriumphosphat . . . . . . 0,1124 g

### Untersuchung der Asche.

100 ccm Harn ergaben 2,0443 g Asche. Dieselbe wird in Wasser gelöst, filtriert und auf 100 ccm aufgefüllt. Die resultierende Flüssigkeit besitzt ein spezifisches Gewicht von 1,0145.

Die Lösung wird mit überschüssigem Ur gerührt und löst 0,22836 g Ur in 100 ccm.

Phosphatbestimmung in der Asche: 100 ccm obiger Aschelösung enthalten 0,1252 g $P_2O_5$, und zwar vollständig als Dialkaliphosphat.

In dem abfiltrierten Teil der Asche sind enthalten:

100 ccm entsprechend . . . . . . . . . 0,1505 g $P_2O_5$

Es ist demnach die gesamte Phosphatmenge, die im ursprünglichen Urin bestimmt worden war, in der Asche wiedergefunden worden.

Untersuchung von Extrakt a.

Die Extraktion wurde diesmal etwas anders bewerkstelligt. Da der zur zweiten Extraktion benutzte ammoniakalische Alkohol nicht ohne Einwirkung auf die Harnbestandteile gewesen war, so wurde die Extraktion des gesamten Abdampfrückstandes nur durch Alkohol (+ Äther), und zwar auf ca. 40° erwärmten, in kleinen Portionen vorgenommen. Es gelang durch immer wiederholte Extraktion schließlich einen pulvrigen Rückstand von hellgelber Farbe (R) zu erhalten, der fast alles Anorganische enthielt, während fast alles Organische in den Alkohol ging. Die alkoholische Lösung wurde nun mit dem gleichen Volumen Äther versetzt, welcher eine amorphe braune Masse von saurer Reaktion fällte. Letztere nennen wir A. 2. Die ätherisch-alkoholische Lösung wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Es hinterblieb eine krystallinische goldgelbe Masse von saurer Reaktion. Wir nennen sie A. 1.

Die erhaltene Menge von A. 1 betrug . . . 24,3 g
„ „ „ „ A. 2 „ . . . 10,7 g
„ „ „ „ R „ . . . 21,7 g

Untersuchung von Rückstand R.

Das nach Extraktion des Abdampfrückstandes mit Alkohol Zurückbleibende stellte eine trockene, hellgelbe, pulvrige Masse dar, die in Wasser leicht löslich ist, bis auf einen geringen Rückstand, den wir V nennen. Diese Lösung besitzt eine neutrale bis andeutungsweise amphotere Reaktion.

Wird R im ursprünglichen Verhältnis in Wasser gelöst (2,17 : 100 ccm) und filtriert, so ergibt sich eine klare, schwach gelbliche Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,014.

Diese R-Lösung enthält gelöst: 0,0187 g Ur in 100 ccm und löst noch nach dem Rühren mit Ur 0,0556 g Ur in 100 ccm.

Gehalt der R-Lösung an Phosphorsäure: Gesamt 0,1820 g in 100 ccm. Davon ist gebunden als:

Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . 0,0886 g
Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . 0,0934 g

Die 100 ccm entsprechende Menge von V enthält 0,03805 g Ur.

Einfluß des Extraktes $A_1$ auf die Lösungsfähigkeit von R.

Werden R und $A_1$ im gleichen Verhältnis, wie sie im ursprünglichen Harn vorhanden sind, in Wasser gelöst, so erhält man eine saure Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,019. Wird dieselbe mit Ur gerührt, so enthalten

100 ccm . . . . . . . . . . . . . . . . . 0,0260 g
da R schon gelöst enthält . . . . . . . . . . . . 0,0187 g,
so werden von der zugesetzten Harnsäure nur noch gelöst 0,0073 g.

### Einfluß des Extraktes $A_2$ auf die Lösungsfähigkeit von R.

Werden R und $A_2$ in dem Verhältnis, wie es im ursprünglichen Harn vorliegt, in Wasser gelöst, so entsteht eine saure Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,0175. Wird dieselbe mit Ur gerührt, so enthalten

100 ccm . . . . . . . . . . . . . . . . . . 0,046 g Ur.
Es sind also noch in Lösung gegangen in 100 ccm . 0,0273 g Ur.

### Einfluß von Extrakt $A_1$ + Extrakt $A_2$ auf die Lösungsfähigkeit von R.

Werden R + $A_1$ und $A_2$ im ursprünglichen Harnverhältnis gelöst, so resultiert eine Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,0215 (etwas weniger wie der ursprüngliche Harn, weil bei der Verarbeitung kleine Substanzverluste nicht zu vermeiden sind).

Wird diese Flüssigkeit mit Ur gerührt, so enthalten 100 ccm 0,0165 g Ur. Es ist also durch den Einfluß der sauren Extrakte noch ein kleiner Teil (0,0012 g Ur) der ursprünglich gelösten Harnsäure aus R gefällt worden.

### Verhalten des von Phosphorsäure befreiten Harnes der gleichen Probe wie oben.

Zur Entfernung der Phosphorsäure wurden 450 ccm Harn mit 50 ccm Bleiacetatlösung (1 : 4) versetzt und durchgeschüttelt. Die Flüssigkeit blieb bis zum nächsten Tage zum Absetzen stehen. Sodann wurde der voluminöse Niederschlag abfiltriert und das Filtrat durch $H_2S$ von Blei befreit. Der überschüssige $H_2S$ wurde durch Erwärmen unter Durchleiten von Luft entlernt.

Das klare, $H_2S$-freie Filtrat wird nun auf seine Lösungsfähigkeit gegen Ur geprüft.

a) Der wie vorstehend behandelte Harn stellt eine hellgelbe, saure Flüssigkeit vor, vom spezifischen Gewicht 1,022.

Dieselbe wird mit Ur gerührt. Sie enthält weder Harnsäure, noch löst sie solche.

b) Dieselbe Flüssigkeit, welche durch die oben geschilderte Behandlung freie Essigsäure (aus dem Bleiacetat) enthält, wird mit kohlensaurem Kalk neutralisiert, wobei ein Teil der Base als Kalkacetat in Lösung geht.

Es ergibt sich eine hellgelbe, fast neutrale bis schwach alkalische Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,0260.

Dieselbe wird mit Ur gerührt: 100 ccm lösen 0,08265 g Ur.

c) Dieselbe Flüssigkeit wie bei Versuch b) wird nach dem Neutralisieren mit $CaCO_3$ noch durch Zusatz von Extrakt $A_1$ und $A_2$ (in der gleichen Menge wie im ursprünglichen Harn) versetzt. Es entsteht eine gelbe, saure Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,031.

Dieselbe wird mit Ur gerührt: 100 ccm lösen 0,03915 g Ur.

d) In 100 ccm des phosphatfrei gemachten und entbleiten Harns werden 1,388 g $Na_2HPO_4$ (enthaltend 0,275 g $P_2O_5$, d. h. die gleiche Menge

$P_2O_5$ wie der ursprüngliche Harn) aufgelöst. Die Untersuchung ergibt, daß von den 0,275 g $P_2O_5$ übergegangen sind:

in Mononatriumphosphat . . . . . . . . . 0,171
in Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . 0,104

(ca. drei Fünftel des $P_2O_5$ sind durch die Essigsäure in $NaH_2PO_4$ umgewandelt worden). Mit Ur gerührt, lösen 100 ccm 0,0195 g Ur.

e) Um den störenden Einfluß der freien Essigsäure auszuschalten, ohne andere Körper zuführen zu müssen, wird der von Phosphorsäure befreite entbleite Harn der Destillation im Dampfstrom unterworfen, bis das Destillat neutral ist.

Der zurückbleibende Harn ist noch immer ziemlich stark sauer.

Nach dem Rühren mit Ur enthalten: 100 ccm 0,028 g Ur.

f) Der gleiche Harn wie bei Versuch e) wird mit $Na_2HPO_4$ (1,388 g = 0,275 g $P_2O_5$ auf 100 ccm) versetzt. Die Lösung reagiert schwach alkalisch. Von dem zugesetzten 0,275 g $P_2O_5$ sind gebunden als

Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . 0,054 g
Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . 0,221 g.

Nach dem Rühren mit Ur enthalten 100 ccm 0,16965 g Ur.

g) Der gleiche Harn wie bei Versuch e) wird mit $NaHCO_3$ (entsprechend dem Na-Gehalt des $Na_2HPO_4$ in Versuch f), und zwar 0,6512 g versetzt. Die Lösung reagiert schwach alkalisch.

Nach dem Rühren mit Ur enthalten 100 ccm 0,4 g Ur.

### Verhalten der Aschelösung des von Phosphorsäure befreiten Harns.

100 ccm des durch Bleiacetat von Phosphorsäure befreiten und entbleiten Harns werden eingedampft und verascht. Es resultieren 1,7795 g Asche, deren Lösung alkalisch reagiert. Die erhaltene Menge Asche wird wieder auf das ursprüngliche Volumen von 100 ccm gelöst und mit Ur gerührt.

100 ccm Aschelösung lösen 0,37845 g Ur.

Anmerkung. In dieser Asche waren Phosphate nicht nachweisbar.

## *Zusammenstellung.*

In 100 ccm des ursprünglichen Harnes sind

enthalten **Harnsäure** . . . . . . . . . . . . 0,07134 g
davon fallen beim Rühren aus . . . . . . . . 0,02958 g
folglich sind in wirkl. Lösung . . . . . . . . . 0,04176 g

In 100 ccm des ursprünglichen Harnes sind

enthalten **Phosphorsäure** . . . . . . . . . . 0,2750 g
als Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . . 0,1625 g
als Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . . 0,1124 g

Von zugesetzter Harnsäure lösen 100 ccm:

| | |
|---|---|
| Aschelösung . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,2283 g Ur |
| Aschelösung, von $P_2O_5$ befreit . . . . . . . . . | 0,3784 g „ |
| R-Lösung . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0556 g „ |
| (enthält außerdem 0,0187 g Ur gelöst) | |
| R + A-Lösung . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0073 g „ |
| R + $A_2$-Lösung . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0273 g „ |
| R + $A_1$ + $A_2$-Lösung . . . . . . . . . . . . | 0,0012 g „ |

Von zugesetzter Harnsäure lösen 100 ccm:

Entphosphatierter Harn,

| | |
|---|---|
| a) noch freie Essigsäure enthaltend . . . . | 0 |
| b) mit $CaCO_3$ neutralisiert . . . . . . . . | 0,08265 g |
| c) desgl. wie b), aber mit Zusatz von $A_1$ und $A_2$ | 0,03915 g |
| d) desgl. wie a), aber mit Zusatz von $Na_2HPO_4$ | 0,0195 g |
| e) durch Dampf von Essigsäure befreit . . | 0,0280 g |
| f) wie e), aber mit Zusatz von $Na_2HPO_4$ . . . | 0,16965 g |
| g) wie e), aber mit Zusatz von $NaHCO_3$ . . . | 0,4001 g |

**Harn beeinflußt durch Alkalizufuhr (Trinken von Oberbrunnen[1])).**

Der zu untersuchende Harn (Dr. W. 26. Januar 1907) besitzt ein spezifisches Gewicht 1,018.

Reaktion schwach sauer.

Der Harnsäuregehalt beträgt 0,03388 in 100 ccm.

Wird der Harn mit Ur gerührt, so enthält er

0,07969 g in 100 ccm.

Er löst also noch 0,04581 g in 100 ccm.

Der Gesamtgehalt an Phosphorsäure beträgt

0,1105 g $P_2O_5$ in 100 ccm.

Davon sind gebunden als:

| | |
|---|---|
| Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . | 0,0256 g |
| Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . . | 0,0849 g |

Untersuchung der Asche.

100 ccm Harn ergeben 1,5083 g Asche. Dieselbe wird in Wasser gelöst, filtriert und auf 100 ccm aufgefüllt. Die erhaltene Flüssigkeit ist stark alkalisch und besitzt das spezifische Gewicht 1,009.

---

[1]) Der Salzbrunner Oberbrunnen ist ein alkalischer Säuerling. Er enthält in 1 l insgesamt 4,2 g Salze, davon 2,4 g Natriumbicarbonat; außerdem noch 1,87 g freie Kohlensäure.

Nach dem Rühren mit Ur enthält die Aschelösung in 100 ccm 0,1485 g Ur.

### Untersuchung von Extrakt A.

Die Extraktion des Abdampfrückstandes erfolgte wiederum nur durch Alkohol[1]). Auf eine Trennung der alkoholischen Lösung in Ätherlösliches und Ätherunlösliches wurde verzichtet. Die alkoholische Lösung wurde im Vakuum von Alkohol befreit. Der Rückstand bildet eine goldgelbe saure Masse.

Es wurden erhalten:

20 g A,
14 g R.

### Untersuchung von Rückstand R.

Wird R im ursprünglichen Verhältnis in Wasser gelöst (1,4 g auf 100 ccm), so erhalten wir eine schwach alkalische Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,009.

Diese R-Lösung enthält vor dem Rühren

0,02142 g Harnsäure in 100 ccm,

nach dem Rühren

0,11208 g Ur in 100 ccm.

Also sind gelöst worden:

0,09066 g in 100 ccm.

### Einfluß des Extraktes A auf die Lösungsfähigkeit von R.

Werden R und A im ursprünglichen Verhältnis gelöst (1,4 g + 2 g auf 100 ccm), so erhalten wir eine schwach saure Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 1,0165.

Wird diese Lösung mit Ur gerührt, so enthalten 100 ccm 0,0528 g Ur.

Ziehen wir davon ab die in R ursprünglich enthaltene Menge in 100 ccm, 0,0214 g Ur, so sind also noch gelöst worden 0,0314 g Ur.

### Untersuchung des phosphorsäurefreien Harns.

a) Der mit Bleiacetat von $P_2O_5$ befreite und durch Destillieren im Dampfstrom entsäuerte Harn besitzt stark saure Reaktion und das spezifische Gewicht 1,015. Wird derselbe mit Ur gerührt, so enthalten 100 ccm 0,01656 g Ur.

b) Dem gleichen Harn wie bei a) wird auf 100 ccm 0,5576 g $Na_2HPO_4$ zugesetzt (entsprechend dem ursprünglichen $P_2O_5$-Gehalt).

Die Reaktion der Lösung ist schwach sauer.

Wird die Lösung mit Ur gerührt, so enthalten 100 ccm 0,08568 g Ur.

Von der gesamten $P_2O_5$-Menge = 0,1105 g sind gebunden als:

Mononatriumphosphat . . . . . . . . . . 0,0237 g
Dinatriumphosphat . . . . . . . . . . . 0,0868 g

---

[1]) + 5% Äther.

c) Dem gleichen Harn wie bei a) wird auf 100 ccm 0,266 g $NaHCO_3$ zugesetzt (entsprechend dem Na-Gehalt des Phosphats bei b)).

Die Reaktion der Lösung ist sehr schwach alkalisch. Wird die Lösung mit Ur gerührt, so enthalten 100 ccm 0,11710 g Ur.

### *Zusammenstellung.*

| | |
|---|---|
| Im 100 des ursprünglichen Harns sind enthalten Harnsäure . . . . . . . . . . . . . . | 0,03388 g. |
| Von zugesetzter Harnsäure lösen 100 ccm ursprünglicher Harn . . . . . . . . . . . . . | 0,04581 g |
| (außer den ursprüngl. vorhandenen 0,03388 g) | |
| Gesamtkapazität also . . . . . . . . . . . | 0,07969 g |
| Aschelösung . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,1485 g |
| R-Lösung . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,09066 g |
| (außer den ursprüngl. vorhandenen 0,02142 g) | |
| Gesamtkapazität also . . . . . . . . . . . . . | 0,11208 g |
| R + A-Lösung . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,0592 g |
| a) Harn ohne Phosphorsäure . . . . . . . | 0,01656 g |
| b) wie vor, aber + $Na_2HPO_4$ . . . . . . . | 0,08568 g |
| c) wie a), aber + $NaHCO_3$ . . . . . . . . | 0,11710 g. |

## II. Teil.

### Über den Einfluß des Urochroms auf das Ausfallen der Harnsäure.

G. Klemperer hat in sehr einleuchtender Weise den hemmenden Einfluß gewisser kolloider Substanzen, z. B. Seife, Gelatine, Stärkekleister, auf die Fällung der Harnsäure dargetan[1]).

Ferner hat er gefunden, daß das Urochrom, welches er für einen in hohem Grade kolloiden Körper anspricht, beträchtliche Mengen freie Harnsäure in physikalischer Lösung zu halten vermag. Zum Beweise stellt er folgenden Versuch an:

$^1/_2$ l normaler Urin wird mit Tierkohle entfärbt und das klare farblose Filtrat in drei Teile geteilt. Ein Teil, unbehandelt, bleibt ganz unverändert. Ein zweiter Teil wird mit 50 ccm Natriumuratlösung (0,096 g Ur enthaltend) und 0,5 g $NaH_2PO_4$ versetzt. Es erfolgt sofort ein Niederschlag. Der dritte Teil wird

---

[1]) Untersuchungen über die Lösungsverhältnisse der Harnsäure im Urin von G. Klemperer. Verhandlung des Kongresses für innere Medizin, Wiesbaden 1902.

mit etwas Urochrom versetzt, darauf Urat und Phosphat wie bei 2. Erst nach mehreren Stunden entsteht ein Niederschlag, und nach 24 Stunden ist erheblich weniger ausgefallen wie bei II.

Als wir zum ersten Male durch alkoholische Extraktion der Harnbestandteile jene goldgelbe krystallinische Masse, meist organischer Natur, erhalten hatten, welche auch die Harnfarbstoffe enthielt, versuchten wir, die Experimente Klemperers nachzuprüfen, indem wir zu zwei gleichen Portionen eines mit Tierkohle entfärbten Harns so viel von dem alkoholischen Extrakt zugaben, daß eine normale Harnfarbe entstand, dann eine bestimmte Menge Uratlösung, und schließlich eine Lösung von Natriumphosphat zusetzten. Die zweite Portion wurde ebenso behandelt, jedoch ohne Extraktzusatz. Wir nahmen nun an, daß die mit Extrakt versetzte Harnportion anfangs klar bleiben würde, während die nicht gefärbte Portion sofort eine Fällung zeigen würde. Allein es trat gerade das Gegenteil ein. Die gelbe Flüssigkeit trübte sich sofort unter Ausscheidung eines krystallinischen Niederschlages, während die farblose Flüssigkeit erst nach etwa 15 Minuten anfing, sich deutlich zu trüben. Als wir dieser Erscheinung auf den Grund gingen, fanden wir, daß das alkoholische Extrakt schon allein Uratlösungen fällte, trotz des Vorhandenseins von Urochrom. (Dieser Befund führte uns schließlich zur Entdeckung der Hippursäure als eines der im Harn vorhandenen Harnsäure fällenden Körper.)

Um das Verhalten des reinen Urochroms zu studieren, isolierten wir dasselbe, und zwar sowohl nach der Methode von Garrod, wie auch nach derjenigen von Kramm.

Mit dem Urochrom stellten wir folgende Versuche an:

I. a) 150 ccm entfärbter Harn wurden mit 50 ccm Natriumuratlösung (0,1 g Ur enthaltend) und dann mit 0,5 g $NaH_2PO_4$ versetzt. Nach 30 Minuten ist eine leichte Trübung wahrzunehmen. Nach 22 Stunden sind 0,0535 g Ur ausgefallen.

b) 150 ccm entfärbter Harn (identisch mit a)) wird mit 10 ccm Urochromlösung, dann mit 50 ccm Uratlösung und 0,5 g $NaH_2PO_4$ versetzt.

Nach ca. 4 Stunden beginnt die Trübung, nach 22 Stunden sind ausgefallen 0,0335 g Ur.

II. a) 125 ccm eines anderen Harns, der entfärbt wurde, werden mit 10 ccm Wasser, 50 ccm Uratlösung (0,1 g Ur), 5 ccm Natriumphosphatlösung (0,5 g $NaH_2PO_4$) versetzt. Nach 20 Minuten beginnt eine starke Trübung, nach 22 Stunden sind ausgefallen 0,0321 g Ur.

b) 125 ccm entfärbter Harn werden mit 10 ccm Urochromlösung, 50 ccm Uratlösung und 5 ccm Natriumphosphat versetzt. Nach 20 Minuten beginnt eine starke Trübung. Nach 22 Stunden sind ausgefallen 0,0357 g Ur.

Harn unter dem Einflusse eines alkalischen Mineralwassers.

III. a) 125 ccm entfärbter Harn wird mit 10 ccm Aq. dest., 50 ccm Uratlösung und 5 ccm $NaH_2PO_4$ versetzt. Nach einer Stunde ist das erste Ausfallen eines Niederschlages zu bemerken. Nach $5^1/_2$ Stunden sind ausgefallen 0,0099 g Ur.

b) 125 ccm entfärbter Harn wird mit 10 ccm Urochromlösung, 50 ccm Uratlösung, 5 ccm $NaH_2PO_4$ versetzt. Nach einer Stunde ist eine Trübung zu bemerken. Nach $5^1/_2$ Stunden sind ausgefallen 0,0010 g Ur.

Versuch I und III bestätigten die Ansicht Klemperers, daß das Urochrom auf die Fällung der Harnsäure hemmend wirkt, durchaus. Versuch II scheint dem zu widersprechen, da die mit Urochrom versetzte Lösung sogar mehr Ur ausfallen ließ, als die nicht urochromierte. Wir führen diese Erscheinung darauf zurück, daß wir es bei II mit einem sehr konzentrierten, stark sauren Harn zu tun hatten. Die Annahme, daß auch die Acidität dabei eine bedeutende Rolle spielt, wird wiederum bestätigt durch Versuch III, wo die Lösung ohne Urochrom ungefähr das Zehnfache an Ur ausfallen läßt, wie die mit Urochrom versetzte. Der fragliche Harn stand nämlich unter dem Einflusse eines alkalischen Mineralwassers und war nur schwach sauer. Wir haben übrigens die Beobachtung gemacht, daß der fällunghemmende Einfluß des Urochroms in den ersten Stunden am größten ist. Dies ist für die Vorgänge im Organismus von großer Wichtigkeit, insofern als der fertige Harn ja immer nur wenige Stunden im Körper weilt.

Die Ansicht Klemperers von der in hohem Grade kolloidalen Natur des Urochroms haben wir indessen nicht ganz bestätigt gefunden. Klemperer gibt an, daß konzentrierte Urochromlösungen den Dialysierschlauch selbst nach vier Tagen nicht merklich passieren. Wir haben diesen Versuch wiederholt angesetllt, sowohl mit Urochrom nach Garrod, wie nach Kramm, wie auch mit konzentriertem Harn. Stets wurde das den Dialysierschlauch umgebende Wasser nach 3—4 Stunden deutlich gelb gefärbt. Eine Undichtigkeit der Schläuche (bester Pergamentschlauch) müssen wir für ausgeschlossen halten.

Ein weiterer Versuch galt der Prüfung des Einflusses der sehr kolloidalen, den Farbstoff begleitenden Substanzen. Wir hatten in einem Falle (Seite 14) das alkoholische Extrakt mit Äther ge-

fällt und als Fällungsprodukt eine dickflüssige braune, fast allen gelben Farbstoff enthaltende Masse gewonnen. Diese Masse befreiten wir von Alkohol und Äther, lösten in Wasser (1 : 10) und dialysierten nun gegen häufig erneuertes Wasser. Das letztere färbte sich nach einigen Stunden intensiv gelb, und nach zwei Tagen blieb im Dialysierschlauch eine bräunliche, sehr wenig farbkräftige Lösung zurück. Diese Flüssigkeit mußte die am stärksten kolloidalen Substanzen enthalten. Wir benutzten sie daher zu einem Fällungsversuche, wie vorher das Urochrom.

a) 50 ccm Uratlösung werden mit 50 ccm der obigen Kolloidlösung und sodann mit 0,5 g $NaH_2PO_4$ versetzt. Nach 24 Stunden sind ausgefallen 0,0640 g Ur.

b) 50 ccm Uratlösung werden mit 50 ccm Wasser und dann mit 0,5 g $NaH_2PO_4$ versetzt. Nach 24 Stunden sind ausgefallen 0,0683 g Ur.

Es geht daraus hervor, daß die kolloidalen Substanzen allein noch nicht ausreichen, um eine erhebliche Fällungshemmung zu verursachen, sondern, daß hier noch ein anderes Moment mitspricht. Dieses andere Moment ist, wie wir schon oben erwähnten, die Acidität und die Konzentration des Harns. Bei sehr sauren Harnen ist die Wirksamkeit des Urochroms und der kolloidalen Substanzen eine beschränkte.

Ist also die Neigung der Harnsäure auszufallen, eine sehr große, so genügt das Urochrom nicht allein, dies zu verhindern, sondern man muß auch für Abstumpfung der Säure sorgen.

Zwei Versuche über den Einfluß krystallisierter Substanzen auf die Löslichkeit der Harnsäure.

1. 100 ccm einer 2prozentigen Lösung von Harnstoff wurden mit 0,2338 g Ur eine Stunde lang bei 37° gerührt. Nach dieser Zeit waren von der zugesetzten Harnsäure in Lösung gegangen 0,0085 g Ur.

2. 100 ccm einer 2prozentigen Lösung von Natriumacetat wurden mit 0,2 g Ur eine Stunde lang bei 37° gerührt. Nach dieser Zeit waren in Lösung gegangen 0,0664 g Ur.

## III. Teil.

## Die Ursachen der Fällung und des Gelöstbleibens der freien Harnsäure.

Aus unseren Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß es der anorganische Teil der gelösten Harnbestandteile ist, welcher die Lösung der Harnsäure bewirkt. Ob wir die Lösung der Asche

oder diejenige der durch Extraktion vom organischen Teil getrennten Salze benutzen, immer ist die Lösungsfähigkeit des anorganischen Teils eine sehr große. Ein Zusatz des organischen Teils dagegen beeinträchtigt die Lösungsfähigkeit der Salze ganz erheblich, so zwar, daß die Harnsäurekapazität häufig bis auf ein Drittel bis ein Fünftel reduziert wird. In einem Falle bewirkte der Zusatz des organischen Teils sogar ein augenblickliches Ausfallen der noch im anorganischen Teil gelöst gebliebenen Harnsäure. Die Phosphate als solche sind zur Lösung der Harnsäure nicht erforderlich, sondern das Überwiegen einer Base. (Dinatriumphosphat löst Ur, Mononatriumphosphat nicht.) So sehen wir, daß der Zusatz von Natriumbicarbonat zu dem von Phosphorsäure befreiten Harn dessen Lösungsfähigkeit für Ur ganz enorm steigert. Die Lösung der Harnsäure im Harn ist also im Grunde genommen lediglich eine Salzbildung — Bildung von Urat.

Die Beeinträchtigung der Lösungsfähigkeit für Harnsäure, bzw. die Fällung der Harnsäure aus den Salzen, wird von einem im organischen Teile enthaltenen Prinzip bewirkt. Setzen wir zu künstlichen oder natürlichen Uratlösungen eine konzentrierte Lösung der organischen Extrakte, so erhalten wir einen Niederschlag von freier Harnsäure oder auch saurem Urat. Welcher Art ist nun dieses Lösung hindernde bzw. fällende Prinzip? Wie wir nachgewiesen haben, ist die Lösung der Harnsäure in erster Linie eine Salzbildung. Aus den gebildeten Salzen kann die Harnsäure natürlich nur durch eine andere, stärkere Säure gefällt werden. Die organischen Extrakte sind aber stark sauer. Wir haben versucht, das saure Prinzip der organischen Extrakte zu isolieren. Wir bemerken, daß die völlig wasserfreien Extrakte beim Schütteln mit Äther an diesen einen Körper von saurer Reaktion abgeben, welcher allmählich krystallisiert.

Darauf gründeten wir die Darstellungsmethode des sauren Körpers. Wir dampften Harn bei 30—40° im Vakuum unter allen Kautelen ein, trockneten den mit Sand gemischten Rückstand über Schwefelsäure im Vakuumexsikkator sorgfältigst und extrahierten das Gemenge im Soxhlet schen Extraktionsapparat mit reinem Äther. Nach 24—48 stündiger Extraktion erhielten wir einen schön krystallisierenden Körper, welcher folgende Eigenschaften besaß:

Er krystallisierte in vierseitigen Prismen, welche den Schmelzpunkt 131° zeigten. Der Körper ist in Alkohol und Wasser, — in

letzterem nicht vollständig — leicht löslich, dagegen in Äther, Chloroform, Benzol, Ligroin so gut wie unlöslich.

Beim Erhitzen hinterläßt er unter Entweichen von Ammoniak einen Rückstand, welcher die Biuretreaktion gibt. Mit Salpetersäure und Oxalsäure gibt er die typischen Krystalle des salpetersauren bzw. oxalsauren Harnstoffs; kurz, es konnte kein Zweifel sein, daß wir Harnstoff vor uns hatten. Auffallend aber war, daß der Körper auch nach mehrmaligem Umkrystallisieren sauer reagierte und, zu einer Uratlösung gebracht, aus dieser sofort Harnsäure fällte.

Wir schritten deshalb zur Analyse, welche folgendes ergab:

1. 0,1113 g Substanz lieferten . . . . . 0,1038 g $CO_2$
und 0,0733 g $H_2O$.
2. 0,2081 g Substanz lieferten . . . . . 0,1582 g $CO_2$
und 0,1337 g $H_2O$.
3. 0,1214 g Substanz lieferten . . . . . 0,7956 g $(NH_4)_2PtCl_6$
4. 0,1738 g Substanz lieferten . . . . . 0,2682 g $NH_4Cl$.

Daraus ergibt sich die Zusammensetzung:

C = a) 25,43%, b) 20,73%.
H = a) 7,36%, b) 7,17%.
N = c) 41,47%, d) 40,48%.

Harnstoff mußte ergeben:

C 20%, H 6%, N 46,6%.

Es lag also kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch von Harnstoff mit einem kohlenstoffreicheren und stickstoffärmeren Körper vor, der offenbar der Träger des sauren Charakters war. Und in der Tat, als wir den oben beschriebenen Harnstoffkörper in verdünnte Schwefelsäure eintrugen und ausätherten, erhielten wir nach mehrmaligem Umkrystallisieren einen blendend weißen, in lockeren seidenartigen Nadeln, zum Teil drusenförmig angeordnet, krystallisierenden Körper vom Schmelzpunkt 187°. Derselbe war in kaltem Wasser sehr schwer, in heißem leichter löslich, in Alkohol sehr leicht, in Äther schwer löslich, in Benzol, Ligroin usw. so gut wie unlöslich. Wurde der Körper mit starker Salpetersäure gekocht, und nach dem Verdampfen der letzteren über freier Flamme erhitzt, so trat der charakteristische Geruch nach Nitrobenzol auf. Es lag also eine aromatische Verbindung vor.

Die Elementaranalyse ergab folgendes:

0,0815 g Substanz lieferte . . . . . . . . . . . 0,1806 g $CO_2$.
0,0815 g Substanz lieferte . . . . . . . . . . . 0,0395 $H_2O$.

Diese Analyse stimmte, wie auch der Schmelzpunkt und die qualitative Reaktion auf Hippursäure.

| Berechnet für $C_9H_9NO_3$ | Gefunden |
|---|---|
| C = 60,33% | C = 60,43% |
| H = 5,06% | H = 5,4%. |

Bringt man eine Spur Hippursäure in eine Uratlösung, so erfolgt sofort Fällung von Harnsäure. Wir haben also in der Hippursäure ein die Harnsäure fällendes bzw. deren Lösung verhinderndes Prinzip gefunden.

Daneben mögen wohl auch noch andere Säuren in Wirksamkeit treten. Die Form, in welcher die Hippursäure, eine in reinem Wasser schwerlösliche Verbindung, im Harn auftritt, ist wahrscheinlich die einer Harnstoffverbindung. Daß wir nach mehrmaligem Umkrystallisieren einen einheitlichen Körper nicht erhalten konnten, liegt wohl in dem schwach basischen Charakter des Harnstoffs begründet, in welchem die elektropositive Natur der beiden $NH_2$-Gruppen durch Eintritt der negativen Carboxylgruppe sehr geschwächt wird, was sich ja in der sauren Reaktion der Verbindungen von Harnstoff mit Säuren kundgibt. Die Folge davon ist, daß die Verbindungen des Harnstoffs mit schwächeren Säuren, wozu auch die Hippursäure gehört, welche durch das Vorhandensein der Glykokollgruppe einen ganz eigenartigen Charakter besitzt, stets nur lockere sind.

Warum läßt der Harn die Harnsäure auch beim normalen Menschen nicht schon innerhalb des Körpers ausfallen?

Wir haben oben gezeigt, daß die Harnsäure zunächst als Urat in Lösung sich befindet, dann aber durch Zutritt von Säuren freigemacht wird. Es ist nun eine bekannte Tatsache, die wir ebenfalls durch Versuche wiederum bestätigt haben, daß der Harn häufig viel mehr freie Harnsäure gelöst hält, als dem Lösungskoeffizienten des reinen Wassers entspricht. So konnten wir z. B. durch Rühren des Harns mit zugesetzter Harnsäure in den meisten Fällen freie Harnsäure zum Ausfallen bringen. Es ist demnach auffallend, daß diese Harnsäuremenge, durch welche die Löslich-

keit weit überschritten wird, nicht bereits im Körper ausfällt. Die Gründe dafür, daß dies nicht der Fall ist, sind folgende:

Zunächst muß man sich klar machen, daß jede Fällungsreaktion in solchen Verdünnungen, wie Urat bzw. Harnsäure im Harn vorliegt, eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt. Ferner muß man bedenken, daß im Harn eben keine reine wässerige Uratlösung vorliegt, sondern eine Flüssigkeit, die noch überaus zahlreiche andere organische wie anorganische Stoffe enthält. Bei solchen Gemischen finden wir aber häufig eine Beeinflussung der Löslichkeit der Komponenten, ohne daß neue Verbindungen zu entstehen brauchen. Besonders finden wir die Erscheinung der übersättigten Lösung bei Anwesenheit hochmolekularer nicht krystallisierbarer organischer Körper. Jeder, der sich mit der Darstellung organischer Präparate befaßt hat, weiß, wie schwer es oft hält, Lösungen gut krystallisierbarer Körper zum Auskrystallisieren zu bringen, wenn sich, wie so häufig, durch unerwünschte Nebenreaktionen „Schmieren oder Harze" gebildet haben. Beim Harn ist die Ursache oder eine der Ursachen der Fällungshemmung durch die oben erwähnten Untersuchungen Klemperers, welche wir bestätigen konnten, in der Bildung kolloidaler Lösungen gefunden worden.

Bekanntlich lassen sich sogar vollständig in Wasser unlösliche Körper, wie manche Metalle, in kolloidale Lösung bringen, wenn man ihre Salze bei Zusatz von gewissen viscosen Stoffen, z. B. Gummi arabicum, durch Aldehyde reduziert. Um so leichter wird dies bei der Harnsäure und ihren Salzen der Fall sein, die ja große Neigung haben, kolloidale Lösungen zu bilden. Diese Ansicht wird noch bestätigt durch die oben angeführten Arbeiten Klemperers, welcher die viscose Natur des Urochroms durch exakte Untersuchungen nachgewiesen hat.

Um noch einmal kurz zusammenzufassen:

Die Bedingungen für die Lösung bzw. Fällung der Harnsäure im Harn sind durch drei Momente gegeben:

1. Lösung unter Salzbildung durch anorganische Basen.

2. Fällung unter Freiwerden der Harnsäure durch organische Säuren.

3. Hinderung bzw. Hemmung dieser Fällung durch gewisse organische Substanzen, z. B. Urochrom.

## Schlußwort.

Das Schicksal der Harnsäure im Harn dürfte sich nach vorstehenden Ausführungen folgendermaßen gestalten: Im Blute zirkuliert dieselbe wahrscheinlich als saures Urat. Dieses diffundiert durch die Nierenepithelien (vgl. Klemperer, Deutsche Klinik, 4, 3. Abt., 247) und gelangt in das Nierenbecken und weiter in die Blase. Übersteigt die Konzentration der Uratlösung eine gewisse Grenze, so fällt ein Teil als unlöslich aus. Die Konzentration wird bedingt einerseits durch die Menge der ausgeführten harnsauren Salze, welche natürlich um so größer ist, je mehr Harnsäure im Organismus gebildet wird, was insbesondere in stark ausgesprochenem Maße bekanntlich bei der harnsauren Diathese stattfindet, andererseits durch die Menge des ausgeschiedenen Harns. In konzentrierten Harnen wird häufig das Ausfallen von Harnsäure als Harngries beobachtet. Außer als Urat tritt die Harnsäure noch in freier Form auf. Es ist bekannt, daß dieses Freiwerden der Harnsäure aus dem Urate besonders in stark sauren Harnen stattfindet. Die bisherige Annahme, daß vorzugsweise die Anwesenheit von saurem Phosphat das Ausfallen der Harnsäure bewirkt, ist nach unseren Untersuchungen nicht mehr voll aufrecht zu erhalten. Wir haben nachgewiesen, daß vorzugsweise die organischen Säuren, in erster Linie die Hippursäure, das die Harnsäure in Freiheit setzende Agens darstellen, indem sie eine größere Affinität zu dem Alkali des Urats bekunden und daher das harnsaure Salz zerlegen.

Freie Harnsäure ist in Wasser außerordentlich schwer löslich (nach His 1 : 36 000). Sie kann deshalb nur in übersättigter Lösung im Harn vorhanden sein. Wenn nun auch die Übersättigung eine bestimmte Zeitlang — wie Klemperer nachgewiesen hat und wir bestätigen konnten, unter dem Einflusse des Urochroms — bestehen bleiben kann, ohne daß die Harnsäure ausfällt, so sind doch die Fälle nicht selten, wo die Wirkung des Urochroms durch die hohe Acidität des Harns stark beeinträchtigt wird, so daß man versuchen muß, das Ausfallen der Harnsäure auf andere Weise zu verhindern. Dies geschieht in erster Linie, indem man die übrigen Säuren, besonders die Hippursäure, durch zugeführtes Alkali zu binden sucht. Hierzu eignen sich vorzugsweise die alkalischen Mineralwässer. So be-

obachtet man nach Zufuhr eines alkalischen Mineralwassers, daß die vorher im Urin vorhandene, durch Ausschütteln ausfällbare freie Harnsäure verschwindet und dem Harn die Fähigkeit verliehen wird, zugesetzte freie Harnsäure als Urat in Lösung zu bringen[1]).

---

[1]) Vgl. Determeyer und Büttner, Zur Therapie der harnsauren Diathese. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 21.

# Über Löslichkeitsveränderungen bei Milch- und Serumproteiden.

Von

**A. J. J. Vandevelde** (Gent).

*(Eingegangen am 13. November 1907.)*

Früher habe ich, um organische Flüssigkeiten aufzubewahren, eine Methode[1]) angegeben, welche darin besteht, daß diese Flüssigkeiten mit einer 3 prozentigen, Jodoform enthaltenden Ketonauflösung versetzt werden, und zwar mit einer Menge von 10 Vol.-Prozent.

Ich habe mit der Hilfe dieser Antiseptici in kolostraler Milch und Blutserum die fraktionierte Fällung der Proteide untersucht wie auch den Einfluß auf die Präcipitation nach einer langen Aufbewahrung dieser Proteidlösungen bei 37,5° C.

## I. Kolostralmilch.

In kolostraler Milch wurden die Mengen der folgenden Proteide[2]) bestimmt: 1. Lactoproteid A (Casein), welche mit verdünnter Essigsäure (2 ccm 20 prozentiger Säure für 100 ccm Milch) kalt niedergeschlagen wird; 2. Lactoproteid B (Albumin?), welche in dem Filtrat von Lactoproteid A durch Erhitzung entsteht; 3. Lactoproteid C, welche in dem Filtrat von Lactoproteid B durch Zusatz von starkem Äthylalkohol niederfällt, wenn die alkoholische Endkonzentration auf 70 Vol.-% gebracht wird.

---

[1]) Über die Anwendung von Antisepticis bei Untersuchungen über Enzyme. Diese Zeitschr. **3**, 315—319, 1907.

[2]) Über die Milchproteide und deren Dosierung habe ich die Mitteilung: „Nouvelles recherches sur les ferments solubles du lait. Mémoires couronnés Acad. Sciences Belgique **1907**, 87“ veröffentlicht.

Drei kolostrale Kuhmilcharten wurden untersucht, V 225, V 226 und V 227. Für die Mengen der fällbaren Proteide fand ich die folgenden Ergebnisse bei 100 ccm Milch.

| Milch-arten | Aufbewahrungszeit in Tagen | Mengen der Lactoproteide[1] | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | A | B | C | A + B + C |
| V 225 | 0 | 6,22 | 16,69 | 2,85 | 25,77 |
| | 12 | 12,65 | 8,27 | 2,06 | 23,43 |
| | 28 | 14,09 | 6,55 | 1,24 | 21,89 |
| V 226 | 0 | 5,47 | 0,95 | 11,06 | 17,59 |
| | 24 | 12,81 | 2,03 | 2,25 | 17,10 |
| | 62 | 10,11 | 4,00 | 0,27 | 14,38 |
| V 227 | 0 | 4,80 | 0,01 | 4,13 | 8,94 |
| | 24 | 3,96 | 3,30 | 0,91 | 8,18 |
| | 62 | 3,87 | 3,26 | 0,81 | 7,95 |

Durch diese Ergebnisse wird der Beweis geliefert, daß durch die Aufbewahrung die totalen Mengen der fällbaren Proteide (A + B + C) infolge einer Proteolyse[2]) vermindert wurden. Auch findet eine Umsetzung der Lactoproteide untereinander statt: In der Milch V 225 wächst die Menge des Lactoproteids A und vermindern sich dagegen die Mengen von B und C; in der Milch V 226 finden wir für die Lactoproteide A und B eine Erhöhung und für C eine sehr bedeutende Verminderung; in der Milch V 227 nimmt die Menge des Lactoproteids B ab und es vermindert sich C; daraus ist eine Umsetzung zwischen den drei bestimmten Proteiden zu entnehmen, und es scheint die frühere Hypothese von Duclaux[3]),

[1]) Diese Mengen sind sehr hoch, da es sich hier um Kolostralmilch handelt. Die prozentuale Zusammensetzung der drei Milcharten ist:

| | V 225 | V 226 | V 227 |
|---|---|---|---|
| Proteide . . . . | 25,77 | 17,59 | 8,94 |
| Milchzucker . . . | 1,02 | 1,59 | 2,73 |
| Fett . . . . . . | 1,58 | 2,15 | 4,15 |
| Asche . . . . . | 0,78 | 0,92 | 0,90 |

[2]) Daß Milch eine Proteolase enthält, wird von verschiedenen Untersuchern angenommen; siehe auch meine Mitteilung: Nouvelles recherches sur les ferments solubles du lait, 1907, 13.

[3]) Le lait, études chimiques et microbiologiques, Paris 1894, 69.

daß die Milch ein einziges Proteid enthält, welches durch die Reagenzien in veränderlichen Kondensationszuständen gefällt wird, der Wirklichkeit zu entsprechen.

Bei der Milch werden folglich zwei Erscheinungen hervorgebracht: eine Proteolyse, d. h. eine Verminderung der ausfällbaren Proteide, und eine Umwandlung der Präcipitationsformen.

## II. Blutserum.

Die Proteide des Blutserums wurden nach der Hofmeisterschen Methode[1]) untersucht: Bei ein Drittel-Sättigung mit Ammonsulfat fallen Fibrinoglobulin und Euglobulin (Präcipitat A); in dem Filtrat fällt bei halber Sättigung mit Ammonsulfat Pseudoglobulin (Präcipitat B); in dem Filtrat von B scheidet sich bei Vollsättigung Albumin aus (Präcipitat C).

Die Bestimmung geschah nach der Kjeldahlschen Methode; die erhaltenen Niederschläge wurden zuerst vom Ammonsulfat durch eine zweitägige Diffusion im Leuneschen Cellulosefilter befreit und endlich auf gehärtetem Filter Nr. 575 von der Firma Schleicher & Schüll gesammelt.

Ich untersuchte zwei frische Rindersera, für mich von Tierarzt van de Walle - Gent freundlichst bereitet, und ein seit 1903 aseptisch aufbewahrtes Pferdeserum, das mir von meinem Freund und Mitarbeiter Dr. De Waele - Gent überlassen wurde.

Die fraktionierte Präcipitation nach der Hofmeisterschen Methode führte bei den drei Sera[2]) zu den folgenden Ergebnissen für 100 ccm Serum:

| Serumarten | Aufbewahrungszeit in Tagen | Mengen der Serumproteide | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | A | B | C | A+B+C |
| Rind I frisch) | 0 | 0,06 | 0,19 | 1,15 | 1,40 |
| | 98 | 1,40 | 0,11 | 1,49 | 3,00 |
| Rind II (frisch) | 0 | 0,09 | 0,23 | 1,60 | 1,92 |
| | 82 | 1,62 | 0,09 | 1,71 | 3,42 |
| (Pferd III (alt) | 0 | 0,20 | 0,18 | 1,43 | 1,81 |
| | 98 | 0,98 | 0,06 | 0,85 | 1,89 |

[1]) Nach Angaben in den Abhandlungen der Schüler von Hofmeister wie auch nach einem von Prof. Hofmeister eingesandten Brief.

[2]) Die drei untersuchten Sera enthielten die folgenden Stickstoffverbindungen (nach Kjeldahl bestimmt): Rindserum I: 6,56 G. V. %; Rindserum II: 6,82 G. V. %; Pferdserum III: 5,25 G. V. %.

Die Ergebnisse für die drei Serumarten führen zu der Schlußfolgerung, daß hier keine Proteolyse wie bei der Milch stattfindet; dagegen erhöht sich die Menge der gesamten fällbaren Proteide. Diese Erscheinung, welche hier durch eine wirkliche Kondensation der Proteide bewirkt wird, weil die totalen Mengen von 1,40—3,00% bei Serum I, von 1,92—3,42% bei Serum II und von 1,81—1,89% bei Serum III steigen, erinnert deutlich an die von Wolff und Fernbach[1]) 1903 entdeckte Rückbildung von löslicher zu gewöhnlicher Stärke.

Da die Hofmeistersche Methode einen geringen Teil[2]) der Serumstickstoffverbindungen präcipitiert, scheint die Koagulation auf Kosten von echten sogenannten Globulinen und Albuminen stattzufinden.

Auch bei der Milch fand ich bei den untersuchten Serumarten im Laufe der fraktionierten Fällung Umsetzungen zwischen den verschiedenen ausfällbaren Proteidmengen. In den Rindseris I und II nehmen die Fraktionen A und C zu und die Fraktion B ab; die Werte dieser Erhöhungen sind für Fraktion A ziemlich groß. Auch wie für die Milch erfolgt die Kondensationserscheinung in der Richtung der meist unlöslichen Proteide, nämlich des Serumproteides A.

Daß eine Umwandlung der ausfällbaren Proteide auch stattfindet, wird durch die Ergebnisse am Pferdeserum III bewiesen, bei welchem die totalen fällbaren Proteide nahezu konstant bleiben.

Auch muß hier noch betont werden, daß in frischem Serum ein labiler Löslichkeitszustand besteht, welcher später, wie die Ergebnisse für das alte Pferdeserum beweisen, fixiert wird.

---

[1]) Sur la coagulation de l'amidon. Compt. rend., Paris, **137**, 718—719. 1903. — Recherches sur la coagulation de l'amidon. Ann. brass. dist. **7**, 121—131, 1904. — Sur la coagulation diastatique de l'amidon. Compt. rend., Paris, **139**, 1217—1219, 1904; **140**, 95—97, 1905.

[2]) Hammarsten (Lehrb. d. physiol. Chem. **1895**, 110) gibt die folgenden Werte an für 100 g Pferdeserum: 7,257 Gesamtproteide, 4,565 Serumglobulin, 2,692 Serumalbumin; für 100 g Rindserum: 7,499 Totalproteide, 4,169 Serumglobulin, 3,330 Serumalbumin. — Clarence Quinan (Über spezifische Erythrolyse, Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. **5**, 95, 1904) fand für Ziegenserum 8,1932% Gesamtproteide, 4,4147% Albumin, 3,0292% wasserlösliches Globulin und 0,7468% wasserunlösliches Globulin.

Bei dem Blutserum finden folglich zwei Erscheinungen statt: ein Zurückgehen der Koagulation, welche von der bei der Milch gefundenen Proteolyse ganz verschieden ist, und, wie bei der Milch, eine Umsetzung zwischen den Präcipitationsformen.

Wenn man bedenkt, daß die Proteide sehr labile Verbindungen sind, da sie schon einfach von gewissen Lichtstrahlen wie von Radiumstrahlen präcipitiert werden[1]), so sind bei brutalen Fällungen mit stark wirkenden Reagenzien die oben erwähnten Löslichkeitsveränderungen bei einem einzelnen aufgelösten Proteide leicht zu erklären.

---

[1]) G. Dreyer et O. Haussen, Sur la coagulation des albumines par l'action de la lunière ultraviolette et du radium. Compt. rend., Paris, 145, 234—236, 1907.

# Über die Beeinflussung der präcipitogenen Eigenschaften der Milch durch Autolyse.

Von

**H. De Waele** (Gent).

(Aus dem Institut d'Hygiène et de Bactériologie der Universität in Gent.)

*(Eingegangen am 13. November 1907.)*

Von verschiedenen Autoren ist dargetan worden, daß schon geringe Eingriffe die präcipitogenen Substanzen beeinflussen in der Weise, daß dieselben andersartige Präcipitine erzeugen oder von den vorher erzeugten Präcipitinen nicht mehr oder nur teilweise gefällt werden.

Nolf konnte beweisen, daß das autolysierte Fibrin sowohl wie das Fibrin selbst, beim Kaninchen injiziert, die Bildung von einem Präcipitin hervorruft, das auf die Produkte der Autolyse reagiert. Dagegen bekommt man mit dem durch Pepsin verdauten Fibrin kein Präcipitin, und es lassen sich diese löslichen Eiweißstoffe durch Fibrinopräcipitin nicht fällen. Rulot hatte schon früher die Autolyse des Fibrins auf die Wirkung eines in den Leukocyten enthaltenen proteolytischen Ferments zurückgeführt.

Demnach zieht Nolf aus seinem Experimente den Schluß, daß die Eiweißstoffe durch die pankreatischen und durch die leukocytischen Enzyme eine Reihe Änderungen erfahren, deren erste Stufe mindestens der ursprünglichen Substanz nahe verwandt ist, so daß dieselbe noch einen ähnlichen Antikörper erzeugt. Auch werden diese Körper teilweise wenigstens, so wie die Stoffe, wovon sie abgeleitet sind, durch das Serum der damit vorbehandelten Tiere gefällt. Das leukocytische Ferment scheint weniger zu schädigen als das Trypsin.

P. Th. Müller zeigte, daß die durch Wirkung von Pepsin oder Trypsin entstandenen Spaltungsprodukte der Milch resp. des

Caseins kein Präcipitin mehr erzeugen, weder für die Milch resp. das Casein, noch für sich selbst.

Casein jedoch, das nur geringe Änderungen erfahren, wie Labcasein, Paracasein, Jodcasein, erwärmtes Casein, ist noch fähig, Präcipitin zu bilden.

In einem früheren Aufsatz konnte ich gemeinsam mit Sugg und Vandevelde feststellen, daß auch die Kuhmilch unter geeigneten Bedingungen eine deutliche Autolyse resp. Proteolyse erleidet.

Durch einige bei dieser Gelegenheit gemachte Versuche wurde gezeigt, daß in der autolysierten Milch die Menge der präcipitablen Substanz sich vermehrt hatte, d. h., daß die Eiweißstoffe in einem Zustande sich befanden, in welchem dieselben leichter gefällt werden. Solche Verdünnungen des Serums, welche auf frische Milch nicht mehr reagierten, ließen noch eine deutliche Trübung in der autolysierten Milch entstehen. Diese Vermehrung ließ sich am besten mit Lactoserum nachweisen, weniger mit Caseoserum. Selbst dieses Caseoserum (durch Injektionen von Caseinnatrium beim Kaninchen erzeugt), welches die eingespritzte Substanz nicht zu fällen vermag, reagiert nicht nur auf die Milch, sondern auch, und sogar stärker, auf die autolysierte Milch.

Vorliegende Arbeit ist die Fortsetzung dieser Experimente.

I. Im Anfang der Immunisierung des Kaninchens gegen Milch läßt sich ein Zeitpunkt auffinden, wo das Serum noch nicht auf Milch reagiert, schon aber auf autolysierte Milch.

Später, wenn durch weiter wiederholte Injektionen der Gehalt an Präcipitin steigt, zeigt sich immer das Serum wirksamer auf die autolysierte Milch als auf Milch selbst, es ist um so wirksamer, je weiter die Autolyse fortgeschritten ist.

Kaninchenserum durch subkutane Injektion von Milch gewonnen:

| Verdünnung | Wirksam: auf Milch | auf autolysierte Milch | | |
|---|---|---|---|---|
| | Autolyse: | 1. Tag | 10 Tage | 2 Mon. |
| 1 : 1 | + + | + + | + + + | + + + |
| 1 : 5 | + | + + | + + | + + + |
| 1 : 10 | Spur | + | + | + + |

II. Wenn vergleichsweise an zwei Kaninchen in denselben Zeiten dieselben Mengen, an das eine Milch, an das andere

autolysierte Milch injiziert werden, so erweist sich das Serum des letzteren hochwertiger nicht nur gegen Milch, sondern auch gegen autolysierte Milch. Das Serum reagiert auf sehr weit autolysierte Milch stärker sogar als auf das injizierte Produkt.

Kaninchenserum gewonnen durch subcutane Injektion von:

| | Verdünnung | Milch | autolysierter Milch |
|---|---|---|---|
| Wirksam auf Milch | 1 : 1 | + + + | + + |
| | 1 : 2 | + + + | + |
| | 1 : 5 | 0 | 0 |
| | 1 : 10 | 0 | 0 |
| auf autolysierte Milch, 2 Mon. | 1 : 1 | + + + | + + + |
| (zur Injektion benutzt) | 1 : 2 | + + + | + + + |
| | 1 : 5 | + | + + + |
| | 1 : 10 | 0 | + + |
| auf autolysierte Milch, 10 Mon. | 1 : 1 | + + + | + + + |
| | 1 : 2 | + + + | + + + |
| | 1 : 5 | + + | + + + |
| | 1 : 10 | 0 | + + + |

III. Sind die obigen Unterschiede in der präcipitierenden Wirkung auf Partialpräcipitine zurückzuführen, oder läßt sich nur das Bestehen eines einzigen Präcipitins nachweisen?

Kaninchenserum durch Einspritzungen von autolysierter Milch gewonnen, wird in den Verdünnungen 1 : 2 und 1 : 5 zur Saturation mit autolysierter Milch versetzt, nachher zentrifugiert und dann das Zentrifugat geprüft. Dasselbe reagiert nicht mehr auf Milch und höchstens noch spurweise auf autolysierte Milch.

Ein anderes Kaninchenserum, durch Milch gewonnen, wird in den Verdünnungen 1 : 2 und 1 : 5 durch Milch saturiert und zentrifugiert. Das Zentrifugat reagiert nicht mehr auf Milch und nur noch spurweise auf autolysierte Milch.

Es besteht demnach kein genügender Grund, die Unterschiede als Wirkung von Partialpräcipitinen aufzufassen, sondern als Änderungen, die das Präcipitogen erlitten hat.

IV. Rulot konnte die Autolyse des Fibrins auf die Wirkung eines von den Leukocyten abgegebenen proteolytischen Fermentes zurückführen. Es war zu vermuten, daß man ähnlicherweise auch für die Autolyse der Milch dieselbe Ursache nachweisen könne.

Eine erste Untersuchung ließ erkennen, daß eine gewisse Menge eines aseptisch aus den Mesenterialdrüsen eines Rindes entnommenen Leukocytenbreis eine peptonisierende Wirkung auf durch Hitze sterilisierte und von allen eigenen Fermenten befreite Milch ausübt.

40 ccm auf 100° C sterilisierter Milch werden mit 2 ccm eines solchen Leukocytenbreis versetzt. Die Flasche wird 15 Tage im Brutofen aufbewahrt, nebst einer Kontrolle.

Das Casein wurde in einer zweiten Kontrolle ermittelt.

Wenn nun nach 15 Tagen auch die Caseinmenge der ersten Flaschen bestimmt wurde, ergab sich, daß in der Kontrolle die Menge unverändert geblieben war, in der anderen Flasche dagegen war das Quantum des fällbaren Caseins von 1 g auf 0,7 g gesunken.

V. Wenn man nun die präcipitogene Wirkung dieser künstlich durch Leukocyten teilweise verdauten Milch mit denen der autolysierten Milch vergleicht, zeigt sich, daß die Eigenschaften vollkommen ähnlich sind.

Kaninchenserum, gewonnen durch subcutane Injektion von:

| | Verdünnung | Milch | autolysierter Milch |
|---|---|---|---|
| Wirksam auf Milch | 1 : 1 | + + + | + |
| | 1 : 2 | + + + | |
| | 1 : 5 | + | |
| | 1 : 10 | 0 | |
| auf autolysierte Milch | 1 : 1 | + + + | + + + |
| | 1 : 2 | + + + | + + + |
| | 1 : 5 | + + + | + + + |
| | 1 : 10 | 0 | + + |
| | 1 : 20 | 0 | 0 |
| auf künstlich durch Leukocyten verdaute Milch | 1 : 1 | + + + | + + + |
| | 1 : 2 | + + + | + + + |
| | 1 : 5 | + + + | + + + |
| | 1 : 10 | 0 | + + + |
| | 1 : 20 | 0 | 0 |

Die Produkte der künstlichen Leukocytenverdauung erweisen sich als sehr ähnlich den Produkten der natürlichen Proteolyse.

Andererseits ist bekanntlich die subcutane Einspritzung im allgemeinen die erfolgreichste zur Erzeugung von Präcipitinen. Durch die Arbeiten der Metschnikoffschen Schule wurde bewiesen, daß unlösliche Substanzen, unter die Haut eines Tieres hineingebracht, eine lebhafte Phagocytose anregen, und daß die Lösung dieser Stoffe auf die Leukocyten resp. auf deren Fermente zurückzuführen ist. Das Schicksal der intravenös injizierten Stoffe ist weniger bekannt; es läßt sich allerdings aus der langsameren Bildung von Präcipitin vermuten, daß auch die Verflüssigung langsamer sei.

In folgendem Experiment wurde zum Vergleich an zwei Kaninchen innerhalb 15 Tagen dreimal 10 ccm Milch eingespritzt, dem einen in die Ohrvene, dem andern unter die Haut.

Kaninchenserum, gewonnen durch Einspritzung von Milch

| | Verdünnung | in die Ohrvene | unter die Haut |
|---|---|---|---|
| Wirksam auf Milch | 1 : 1 | 0 | + + + |
| | 1 : 2 | 0 | + + + |
| | 1 : 5 | 0 | 0 |
| auf autolysierte Milch | 1 : 1 | + + | + + + |
| | 1 : 2 | + + | + + + |
| | 1 : 5 | 0 | 0 |
| auf künstliche, durch Leukocyten verdaute Milch | 1 : 1 | 0 | + + + |
| | 1 : 2 | 0 | + + + |
| | 1 : 5 | 0 | 0 |

## Zusammenfassung.

In der autolysierten Milch ist das Casein mindestens teilweise derart umgebildet, daß die präcipitogene Wirkung gegen die der Milch gestiegen ist.

Diese Steigerung zeigt sich sowohl bei den Fällungsversuchen in vitro, wie bei der Erzeugung von Präcipitin in vivo.

Die Änderung ist nicht durch die Bildung von Partialpräcipitinen zu deuten, sondern durch Umbildungen, welche das Präcipitogen unter dem Einfluß eines von den Leukocyten abgegebenen proteolytischen Ferments erleidet.

Die präcipitogenen Eigenschaften, welche durch Autolyse in der Milch herausgebildet werden, können auch durch eine künstliche leukocytische Verdauung in vitro erhalten werden.

Die Erzeugung von Lactopräcipitin beim Kaninchen geht schneller und aktiver nach subcutanen wie nach intravenösen Injektionen vor sich.

## Literatur.

De Waele, Sugg und Vandevelde, Sur l'obtention de lait cru stérile. Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **13**, 30, 1904.

Vandevelde, De Waele und Sugg, Über proteolytische Enzyme der Milch. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 571, 1904.

P. Th. Müller, Vergleichende Studien über die Gerinnung des Caseins durch Lab und Lactoserum. Arch. f. Hygiene **44**, 1902.

P. Molf, Etude des propriétés biologiques des différentes propeptones dérivées d'une même substance albuminoïde. Bull. acad. Belgique **1902**, 11; Arch. de Biol. **20**, 55—84, 1903.

Rulot, De la fibrinolyse dans les solutions salines. Mémoires acad. sciences Belgique 1902.

# Über die Ausführung der Formoltitrierung in stark farbigen Flüssigkeiten.

Von

**S. P. L. Sörensen und H. Jessen-Hansen.**

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

*(Eingegangen am 21. November 1907.)*

In einer früheren Abhandlung[1]) hat der eine von uns darauf aufmerksam gemacht, daß es bei der Formoltitrierung von gelben oder bräunlichgelben Flüssigkeiten zweckmäßig, wenn auch nicht immer notwendig ist, die Kontrollösung durch Zusatz kleiner Mengen von passenden Farbstoffen ähnlich zu färben. Bei enzymatischen Spaltungen geschieht es nur sehr selten, daß die Lösung eine so dunkle Farbe annimmt, daß die Phenolphthaleintitrierung sich nicht mit hinlänglicher Genauigkeit ausführen läßt, wenn die Kontrollösung gefärbt wird. Anders stellt sich die Sache bei den Säure-, besonders den Salzsäurespaltungen. Durch Erwärmen von Proteinen mit verdünnter Schwefelsäure und gewöhnlich in noch höherem Grade durch Kochen oder Eindampfen mit konzentrierter Salzsäure färbt sich die Flüssigkeit tief dunkelbraun, ja nimmt bisweilen eine beinahe schwarze Farbe an, so daß selbst die Phenolphthaleintitrierung, welche in einigermaßen stark farbigen Flüssigkeiten der Thymolphthaleintitrierung vorzuziehen ist, nur dann ausgeführt werden kann, nachdem die Flüssigkeit stark verdünnt worden ist. Eine Entfärbung mit Knochen kohle ist gewöhnlich mit einem merkbaren Verlust von Stickstoff verbunden und kann übrigens, wenn die Knochenkohle nicht ganz rein ist, die Acidität und dadurch die Formoltitrie-

---

[1]) Diese Zeitschr. 7, 61, 1907.

rung beeinflussen. Es wäre daher wünschenswert, eine Methode ausfindig zu machen, durch welche dunkelfarbige Flüssigkeiten ohne Zusatz von sauren oder basischen Stoffen und ohne wesentlichen Stickstoffverlust so weit entfärbt werden können, daß die Formoltitrierung darnach scharf und genau ausgeführt werden kann.

Es hat sich nun durch eine Reihe Versuche mit Salzsäurespaltungsprodukten verschiedener Proteine gezeigt, daß eine solche Entfärbung leicht und einfach durch Fällung in salzsaurer Lösung mit einigermaßen reichlichen Mengen Silbernitrat erzielt werden kann. Bei der später auszuführenden Formoltitrierung dürfen Silbersalze natürlich nicht anwesend sein, und man muß daher, z. B. durch Zusatz von ein paar Kubikzentimeter starker Bariumchloridlösung, dafür Sorge tragen, daß ein Überschuß an Chloriden immer vorhanden ist. Selbst tief dunkelbraune, beinahe schwarze, in dünnen Schichten vollständig undurchsichtige Lösungen nehmen bei dieser Behandlung eine rein gelbe oder jedenfalls eine bräunlichgelbe Farbe an, indem alle stark farbigen Stoffe zugleich mit dem Silberchlorid gefällt werden. Da die mit dem Silberchlorid niedergeschlagene Stickstoffmenge nur klein ist — — in den unten erwähnten Versuchen beträgt dieselbe höchstens 2% des Gesamtstickstoffs — —, und da die zugesetzten Stoffe im übrigen keinen Einfluß auf die Formoltitrierung ausüben (siehe S. 415), ist es leicht verständlich, auf welche Weise die Formoltitrierung sich bewerkstelligen läßt. Eine Beschreibung der Einzelheiten des Verfahrens sowie auch ein Beispiel von der Anwendung der Methode finden sich im folgenden (siehe S. 415).

## Experimentelles.

20 g von jedem der folgenden vier Proteine,

1. Gelatine (bestes käufliches Präparat),
2. Casein (Kahlbaumsches Präparat nach „Hammarsten"),
3. Eieralbumin (käufliches Präparat von braungelber Farbe) und
4. Serumalbumin (käufliches Präparat von braungelber Farbe),

wurden im Kolben je mit 200 ccm konzentrierter Salzsäure gemischt. Nach Stehenlassen bis zum nächsten Tage wurde auf dem Wasserbade 6 Stunden erwärmt, indem die Kolben mit Uhrgläsern bedeckt waren. Danach wurden

die entstandenen dunklen Flüssigkeiten in Schalen auf dem Wasserbade eingeengt, nochmals im Wasser gelöst und wieder bis zu einer dickflüssigen Masse eingedampft. Jede Portion wurde darauf mit $^1/_4$ l Wasser erwärmt, und nach Stehenlassen bis zum nächsten Tage das ungelöste abfiltriert und gut mit Wasser gewaschen. In den zurückgebliebenen schwarzen Rückständen wurde die Gesamtstickstoffmenge ermittelt. Die Lösungen und die Waschwässer wurden auf $^1/_2$ l verdünnt und die erhaltenen Lösungen, welche eine mehr oder weniger dunkle Farbe hatten, wurden bei den Versuchen benutzt.

In diesen Lösungen wurde die Gesamtstickstoffmenge (nach Kjeldahl) die Chlormenge (nach Volhard), sowie auch die Acidität mit Lackmuspapier als Indicator bestimmt; diese letzte Bestimmung konnte gewöhnlich nicht direkt in den stark farbigen Flüssigkeiten, sondern erst in den bei der Entfärbung gewonnenen Filtraten ausgeführt werden.

Zugleich wurden eine Reihe Entfärbungsversuche gemacht; indem 25 ccm (von den wenigst farbigen Flüssigkeiten), bzw. 20 ccm (von den stark farbigen Flüssigkeiten) in 50 ccm-Kolben mit 4 ccm konzentrierter 2n-Bariumchloridlösung gemischt wurden, und darauf nach und nach unter gutem und oft wiederholtem Schütteln verschiedene Mengen konzentrierte $^n/_3$-Silbernitratlösung zugesetzt. Schließlich wurde mit Wasser bis zu 50 ccm nachgefüllt (in dem letzten Versuche jeder Reihe betrug das Volumen schon ohne Zusatz von Wasser ein wenig mehr als 50 ccm). Beim Filtrieren durch ein gewöhnliches Filter war das Filtrat immer sogleich sehr trübe, es dauerte aber gewöhnlich nicht lange (besonders wenn man dafür Sorge trug, soviel wie möglich von dem Niederschlag auf das Filter zu bringen), bis die Filtration tadellos verlief und (wenn die Wiederfüllung des Filters vorsichtig geschah) ein völlig klares Filtrat lieferte. Nach beendigter Filtration wurde der Rest des Niederschlags mit ca. $^n/_5$-Bariumchloridlösung auf das Filter gebracht und dieses dreimal mit $^n/_5$-Bariumchloridlösung gewaschen, indem das Filter jedesmal völlig leer gelaufen war und darauf vollständig mit der Waschflüssigkeit gefüllt wurde. Schließlich wurde die Stickstoffmenge im Filter samt dem Niederschlag bestimmt.

Es wurden Entfärbungsversuche bei zwei verschiedenen Aciditätsgraden angestellt, indem die dunkelfarbigen Flüssigkeiten benutzt wurden, teils als solche (mit einer Acidität einer $^3/_{10}$ n—$^4/_{10}$ n-Säure entsprechend), teils nach Zusatz von so viel n-Natronlauge, daß die Acidität niedriger als die einer $^n/_{10}$-Säurelösung war. Daß die Acidität nach der Verdünnung bis zu 50 ccm noch niedriger war, ist selbstverständlich. Übrigens verweisen wir auf die Tabellen.

## Tabelle I. Gelatine.

**Die Lösung hatte eine gelbbraune Farbe und war in dünnen Schichten (Reagensgläser mit 14 mm Diameter) deutlich durchsichtig. Die Gesamtstickstoffmenge in dem ungelösten Rückstand betrug für die ganze Menge nur 1,60 mg. Die Gesamtstickstoffmenge in 25 ccm der Lösung betrug 137,00 mg. Die Flüssigkeit war in bezug auf Chlorgehalt 0,377 × n, in bezug auf Säuregehalt 0,375 × n.**

| | Die verwendete Menge $^{n}/_{2}$-Silbernitratlösung in ccm $p$ | Der Verlauf der Filtration | Die Farbe des Filtrats | Die zugleich mit dem Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | in mg | in % des Gesamtstickstoffes |
| Für diese 5 Versuche wurden verwendet: 25 ccm der Lösung + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,1875 × n-Lösung | 1 | Filtrierte langsam und nicht ganz klar | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 0,40 | 0,29 |
| | 2 | Filtrierte langsam; zuletzt ganz klar | do. | 0,42 | 0,31 |
| | 5 | Filtrierte ziemlich langsam, zuletzt ganz klar | do. | 0,48 | 0,35 |
| | 10 | Filtrierte schnell völlig klar | Rein gelb | 0,50 | 0,36 |
| | 20 | do. | do. | 0,55 | 0,40 |
| Für diese 5 Versuche wurden verwendet: 25 ccm der Lösung + 7 ccm n-Natronlauge + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,0475 × n-Lösung | 1 | Filtrierte ziemlich langsam, zuletzt ganz klar | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 0,45 | 0,33 |
| | 2 | do. | do. | 0,50 | 0,36 |
| | 5 | Filtrierte schnell völlig klar | Rein gelb | 0,55 | 0,40 |
| | 10 | do. | do. | 0,60 | 0,44 |
| | 20 | do. | do. | 0,65 | 0,47 |

## Tabelle II. Casein.

**Die Lösung hatte eine dunkelbraune Farbe und war selbst in dünnen Schichten beinahe undurchsichtig. Die Gesamtstickstoffmenge in dem ungelösten Rückstand betrug 1,20 mg. Die Gesamtstickstoffmenge in 25 ccm der Lösung betrug 140,75 mg. Die Flüssigkeit war in bezug auf Chlorgehalt 0,382 × n, in bezug auf Säuregehalt 0,400 × n.**

| | Die verwendete Menge $^{n}/_{3}$-Silbernitratlösung in ccm $p$ | Der Verlauf der Filtration | Die Farbe des Filtrats | Die zugleich mit dem Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | in mg | in % des Gesamtstickstoffes |
| Für diese 5 Versuche wurden verwendet: 25 ccm der Lösung + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,200 × n-Lösung | 1 | Filtrierte fast sofort klar | Tief dunkelbraun | 0,60 | 0,43 |
| | 2 | Filtrierte stets ein wenig trübe | Dunkelbraun | 0,75 | 0,53 |
| | 5 | Filtrierte stets ziemlich trübe | Braun | 1,20 | 0,85 |
| | 10 | Filtrierte stets ein wenig trübe | Bräunlich-gelb | 1,50 | 1,07 |
| | 20 | Filtrierte schnell völlig klar | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 1,65 | 1,17 |
| Für diese 5 Versuche wurden verwendet: 25 ccm der Lösung + 7,5 ccm n-Natronlauge + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,050 × n-Lösung | 1 | Filtrierte fast sofort klar | Bräunlich-gelb | 1,25 | 0,89 |
| | 2 | Filtrierte ziemlich langsam, zuletzt ganz klar | do. | 1,30 | 0,92 |
| | 5 | do. | Gelb mit bräunlichem Schein | 1,40 | 0,99 |
| | 10 | Filtrierte schnell völlig klar | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 1,50 | 1,07 |
| | 20 | do. | do. | 1,65 | 1,11 |

## Tabelle III. Eieralbumin.

Die Lösung hatte eine tief schwarzbraune Farbe und war selbst in dünnen Schichten völlig undurchsichtig. Die Gesamtstickstoffmenge in dem ungelösten Rückstand betrug 9,55 mg. Die Gesamtstickstoffmenge in 20 ccm der Lösung betrug 97,00 mg. Die Flüssigkeit war in bezug auf Chlorgehalt 0,360 × n, in bezug auf Säuregehalt 0,318 × n.

| | Die verwendete Menge $^{n}/_{3}$-Silbernitratlösung in ccm $p$ | Der Verlauf der Filtration | Die Farbe des Filtrats | Die zugleich mit dem Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge in mg | Die zugleich mit dem Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge in % des Gesamtstickstoffes |
|---|---|---|---|---|---|
| Für diese 4 Versuche wurden verwendet: 20 ccm der Lösung + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,127 × n-Lösung | 10 | Filtrierten langsam und anfangs sehr stark trübe; schließlich filtrierten alle klar | Gelb mit bräunlichem Schein | 1,75 | 1,80 |
| | 15 | | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 1,75 | 1,80 |
| | 20 | | Gelb | 1,80 | 1,86 |
| | 25 | | do. | 1,80 | 1,86 |
| Für diese 4 Versuche wurden verwendet: 20 ccm der Lösung + 5 ccm n-Natronlauge + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,027 × n-Lösung | 10 | | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 1,85 | 1,91 |
| | 15 | | Gelb | 1,90 | 1,96 |
| | 20 | | do. | 1,90 | 1,96 |
| | 25 | | do. | 1,95 | 2,01 |

## Tabelle IV. Serumalbumin.

**Die Lösung hatte eine tief schwarzbraune Farbe und war selbst in dünnen Schichten völlig undurchsichtig. Die Gesamtstickstoffmenge in dem ungelösten Rückstand betrug 9,00 mg. Die Gesamtstickstoffmenge in 20 ccm der Lösung betrug 94,60 mg. Die Flüssigkeit war in bezug auf Chlorgehalt 0,354 × n, in bezug auf Säuregehalt 0,316 × n.**

| | Die verwendete Menge $^n/_3$ Silbernitratlösung in ccm $p$ | Der Verlauf der Fitration | Die Farbe des Filtrats | Die zugleich mit dem Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge in mg | in % des Gesamtstickstoffes |
|---|---|---|---|---|---|
| Für diese 4 Versuche wurden verwendet: 20 ccm der Lösung + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,126 × n-Lösung. | 10 | Filtrierte langsam und nicht ganz klar | Gelb mit bräunlichem Schein | 1,45 | 1,53 |
| | 15 | do. | Gelb mit schwach bräunlichem Schein | 1,55 | 1,64 |
| | 20 | Filtrierte ziemlich gut u. bald völlig klar | Rein gelb | 1,60 | 1,69 |
| | 25 | do. | do. | 1,65 | 1,74 |
| Für diese 4 Versuche wurden verwendet: 20 ccm der Lösung + 5 ccm n-Natronlauge + 4 ccm 2 n-Bariumchloridlösung + $p$ ccm bernitratlösung + Wasser bis zu 50 ccm. Der Säuregehalt entsprach dann einer 0,026 × n-Lösung. | 10 | Filtrierte langsam und nicht ganz klar | Gelb mit bräunlichem Schein | 1,60 | 1,69 |
| | 15 | Filtrierte ziemlich gut u. bald völlig klar | Rein gelb | 1,65 | 1,74 |
| | 20 | do. | do. | 1,70 | 1,80 |
| | 25 | Filtrierte schnell völlig klar | do. | 1,80 | 1,90 |

Es erhellt aus diesen Versuchen, daß ein Zusatz einer gewissen, passenden Menge Silbernitratlösung notwendig ist, um eine einigermaßen schnelle Filtration und ein genügend helles Filtrat zu erhalten. Diese notwendige Silbernitratmenge ist um so größer, je dunkler die vorliegende Lösung ist. Weiter ist (besonders aus den Caseinversuchen) ersichtlich, daß die mit dem

Silberchlorid gefällte Stickstoffmenge mit der verwendeten Silbernitratmenge zunimmt, solange letztere die obenerwähnte notwendige Menge nicht übersteigt. Andererseits geht besonders aus den Versuchen mit den anderen Proteinen hervor, daß eine Verwendung einer noch größeren Silbernitratmenge als die notwendige nur einen geringen Zuwachs des mitgefällten Stickstoffs zur Folge hat. Durchgehends ist die Entfärbung leichter erreicht worden und die mitgefällte Stickstoffmenge ein wenig, aber auch nur ein wenig größer gewesen bei den schwach sauren als bei den stärker sauren Flüssigkeiten. Dies stimmt ganz damit, daß solche dunkelfarbigen Flüssigkeiten wie die hier in Rede stehenden schon durch Zusatz von Natronlauge einen bräunlichen flockigen Niederschlag fallen lassen.

Die mitgefällte Stickstoffmenge ist desto größer, je dunkler die vorliegende Lösung ist; bei keinem der hier erwähnten Versuche hat dieselbe jedoch 2% des Gesamtstickstoffs überstiegen. In diesem Zusammenhang möge darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Menge des „Huminstickstoffes" gewöhnlich viel höher angegeben wird. So haben A. Kossel und F. Kutscher in ihrer bekannten großen Arbeit „Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper"[1]) meistens mehr als 10% des Gesamtstickstoffes als „Huminstickstoff" gefunden. Ebenso hat A. C. Andersen bei einer im hiesigen Laboratorium ausgeführten, in einer früheren Abhandlung[2]) erwähnten Schwefelsäurespaltung gefunden, daß 8—9% des Gesamtstickstoffes durch Fällung der Schwefelsäure mit Barytlauge mitgefällt werden und selbst durch warmes Wasser nicht extrahiert werden können. Kossel und Kutscher haben indessen wie A. C. Andersen die Fällung in beinahe neutraler, bisweilen alkalischer Lösung ausgeführt, während wir immer die Entfärbung in saurer Lösung bewerkstelligt haben. Wir glauben daher aus unseren Versuchen den Schluß ziehen zu dürfen, daß eine Entfärbung in schwach salzsaurer Lösung durch Silbernitrat ohne wesentlichen Verlust an Stickstoff durchführbar ist.

Bevor wir die Ausführung der Formoltitrierung beschreiben, ist noch zu erwähnen, daß die mit dem Silbernitrat zugeführte

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 165, 1900.
[2]) Diese Zeitschr. **7**, 86, 1907.

Salpetersäure gar keine oxydierende Wirkung auf das Formol hat, was man wohl hätte befürchten können.

Von einer ca. $^n/_5$-Salpetersäure wurden dreimal 15 ccm abgemessen und zu jeder Portion 10 ccm neutralisiertes Formol gesetzt. Die eine Probe wurde sofort titriert (Verbrauch: 15,75 ccm $^n/_5$-Bar.), die zweite wurde nach halbstündigem und die dritte nach 18stündigem Stehenlassen titriert (Verbrauch: 15,75 bzw. 15,70 ccm $^n/_5$-Bar.).

## Die Ausführung der Formoltitrierung.

Liegt eine passend saure Flüssigkeit vor (d. h. in bezug auf Säuregehalt ungefähr $^n/_{10}$), werden 25 ccm derselben in einen 50 ccm Meßkolben gebracht. Ist die vorliegende Lösung nicht passend sauer, nimmt man nur 20 ccm, und es werden je nach den Umständen z. B. 5 ccm $^n/_2$ Salzsäure bzw. Natronlauge zugesetzt. Liegt ein fester Stoff vor, wird eine passende Menge (1—3 g) in dem Meßkolben in 25 ccm $^n/_{10}$ Salzsäure gelöst.

Danach werden ca. 4 ccm ca. 2 n-Bariumchloridlösung (244 g reines $BaCl_2$, 2 $H_2O$ in 1 l Lösung) zugesetzt und darauf nach und nach, unter gutem und oft wiederholtem Schütteln (die letzten Male muß der Kolben während des Schüttelns geschlossen werden) ca. 20 ccm ca. $^n/_3$ Silbernitratlösung (56,7 g reines $AgNO_3$ in 1 l Lösung), am besten aus einem kleinen Meßzylinder, zugetröpfelt. Wenn der gebildete Schaum nach kurzem Stehen sich gesetzt hat, wird kohlensäurefreies Wasser bis zur Marke zugesetzt (und überdies, wenn man einen kleinen Fehler vermeiden will, noch 4 Tropfen Wasser, deren Volumen ungefähr dem Volumen des von 20 ccm $^n/_3$-Silbernitratlösung herrührenden Silberchlorids entspricht).

Nach gutem Schütteln wird durch ein gewöhnliches 11 cm-Filter filtriert, indem man darauf achtet, möglichst viel von dem Niederschlag auf das Filter zu bringen. Das im Anfang trübe Filtrat wird vorsichtig auf das Filter wieder gegossen. Mit einer passenden Menge (15—30 ccm) des völlig klaren Filtrats wird dann eine Formoltitrierung (Phenolphthalein als Indicator und zweckmäßiges Färben der Kontrollösung) in bekannter Weise[1]) ausgeführt, indem die eventuell im voraus zugesetzten Säure- bzw. Basenmengen mit in Rechnung gezogen werden.

---

[1]) Diese Zeitschr. 7, 64, 1907.

Will man die mit dem Silberchlorid mitgefällte Stickstoffmenge bestimmen, wird das Filter und der Niederschlag wie oben angegeben (siehe S. 409) dreimal mit einer ca. $^{n}/_{5}$-Bariumchloridlösung gewaschen, indem man besonders darauf achtet, den obersten Rand des Filters sorgfältig zu waschen, selbst wenn dadurch die Waschwässer ein wenig getrübt werden; denn der dadurch entstandene Fehler ist weit kleiner als der durch ein unvollständiges Waschen verursachte. Schließlich wird die Stickstoffmenge im Filter und Niederschlag zusammen nach Kjeldahl bestimmt.

Zu weiterer Beleuchtung der Frage möchten wir ein bestimmtes Beispiel anführen, das aus einer Versuchsreihe hergenommen ist, welche zum Zwecke hatte, zu untersuchen, wie weit die Proteine durch die verschiedenen Enzyme hydrolysiert werden können.

Zur Untersuchung lag eine schwach alkalische, kochsalzhaltige Lösung vor, welche durch eine lange dauernde Pankreatin- und eine darauf folgende Erepsinverdauung von Casein gewonnen war. Es handelte sich jetzt darum, durch die Untersuchung festzustellen, ob die primäre Spaltung des Caseins durch diese kombinierte Enzymwirkung völlig zu Ende geführt war, oder ob vielleicht Peptidbindungen noch vorhanden waren, die durch Eindampfen mit Salzsäure gelöst werden könnten. Da die in der Lösung eventuell vorhandene Kohlensäure durch die Eindampfung mit Salzsäure entfernt und dadurch der Formoltitrierung entzogen wird, muß die Kohlensäure auch in der mit Salzsäure nicht eingedampften Portion entfernt werden. Das Verfahren war darnach wie folgt:

100 ccm der vorliegenden Lösung wurden in einem Kolben 10 ccm n-Salzsäure zugesetzt, und darauf auf dem Wasserbade eine halbe Stunde unter Durchleitung kohlensäurefreier Luft erwärmt[1]). Nach Abkühlung wurde mit kohlensäurefreiem Wasser bis zu 110 ccm verdünnt und zwei Portionen je auf 50 ccm genau abgemessen. Die eine (A) wurde vorläufig auf die Seite gestellt, während die zweite (B) mit 25 ccm konzentrierter Salzsäure in einer geräumigen Schale auf dem Wasserbade eingedampft wurde; nach Zusatz von 25 ccm ca. 30 prozentiger Salzsäure wurde die Eindampfung wiederholt, der beinahe trockene Rest in Wasser gelöst

[1]) Die ausgetriebene Kohlensäure wurde durch Barytlauge absorbiert und die Menge (4,60 ccm $^{n}/_{5}$-Bar. entsprechend) bestimmt. Für die hier erörterte Frage ist die entfernte Kohlensäuremenge ohne Bedeutung.

und die Lösung nochmals eingeengt. Schließlich wurde in kohlensäurefreiem Wasser gelöst, und die Lösung bis zu 50 ccm verdünnt.

Es lagen also jetzt zwei Lösungen von je 50 ccm vor:

A. Die ursprüngliche Lösung, von braungelber Farbe; in 10 ccm wurden 34,90 mg Gesamtstickstoff gefunden.

B. Die mit Salzsäure eingedampfte Lösung, dunkelbraun; in 10 ccm wurden 35,00 mg Gesamtstickstoff gefunden.

Geht man von der Voraussetzung aus, daß die Eindampfung mit Salzsäure außer der Änderung des Salzsäuregehalts nur ein Lösen der eventuell anwesenden Peptidbindungen (vgl. S. 418) zur Folge gehabt hat, so läßt sich die gestellte Frage durch eine Chlorbestimmung und eine Formoltitrierung in den beiden Lösungen A und B beantworten.

10 ccm der Lösung A verbrauchten 15,50 ccm $^{n}/_{10}$-Silbernitratlös.
10 „ „ „ B „ 38,85 „ „ „

Die Differenz des Chlorgehalts (= die Differenz des Gehalts an freier Salzsäure) entspricht daher 23,35 ccm $^{n}/_{10}$ = 11,68 ccm $^{n}/_{5}$ - Salzsäure.

Die Formoltitrierungen wurden ganz wie oben beschrieben (siehe S. 415) ausgeführt, indem 25 ccm der Lösung A bzw. B mit 4 ccm 2n-Bariumchloridlösung + 20 ccm $^{n}/_{3}$-Silbernitratlösung + Wasser bis zu 50,2 ccm vermischt wurden. Aus den Filtraten ($A_1$ bzw. $B_1$), welche eine rein gelbe Farbe hatten, wurden 20 ccm (10 ccm der ursprünglichen Lösungen A und B entsprechend) für die Formoltitrierungen verwendet. Es wurde mit Phenolphthalein als Indicator und bis zu stark roter Farbe titriert, indem als Kontrollösung 20 ccm Wasser, mit 3 Tropfen Tropäolin O und 12 Tropfen Bismarckbraun gefärbt, verwendet wurden. Bei der Titrierung von $B_1$ wurden im voraus 2 ccm $^{n}/_{1}$-Natronlauge zugesetzt.

20 ccm von $A_1$ verbrauchten . . . . . . . 12,30 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.
20 „ „ $B_1$ „ 15,60 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.
im voraus zugesetzt 2 ccm
$^{n}/_{1}$-Natronlauge = 10,00 „ „ } 25,60 „ „

Differenz 13,30 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.

Hiervon ist abzuziehen die Differenz des Gehalts an freier Salzsäure . . . . . . . 11,68

Differenz 1,62 ccm $^{n}/_{5}$-Bar.

10 ccm von der Lösung B hatten also einen größeren Gehalt an Carboxylgruppen als 10 ccm der Lösung A und zwar einen Mehrgehalt entsprechend 1,62 ccm $^{n}/_{5}$-Bar. Da 1,62 ccm $^{n}/_{5}$-Bar. 4,54 mg Stickstoff oder 12,99% des Gesamtstickstoffes (34,95 mg) entsprechen, ergibt sich also als Resultat der Analyse, daß die vorgelegte Lösung noch ungefähr 13% des Gesamtstickstoffes peptidgebunden enthält.

Wenn man von den Fehlern absieht, welche von den Formoltitrierungen herrühren, und die gewiß sehr klein und von ungefähr derselben Größe bei den beiden Titrierungen, folglich ohne Einfluß auf die gesuchte Differenz sind, muß man bei Beurteilung der Genauigkeit des gewonnenen Resultats darauf aufmerksam sein, daß die Eindampfung mit Salzsäure außer der Hydrolyse noch eine sekundäre Spaltung verursacht hat, denn die Lösung B ist viel dunkelfarbiger als die Lösung A. Es hat sich denn auch gezeigt, daß die mit dem Silberchlorid gefällte wie oben angegeben (siehe S. 416) bestimmte Stickstoffmenge bei der Entfärbung von

A: 0,53 mg Stickstoff betrug (d. h. 0,61% des Gesamtstickstoffes [87,37 mg]),

B: 1,33 mg Stickstoff betrug (d. h. 1,52% des Gesamtstickstoffes).

Geht man von der einfachen, freilich nicht ganz richtigen Voraussetzung aus, daß die mit dem Silberchlorid gefällten Stickstoffverbindungen eine Carboxylgruppe für jedes Stickstoffatom enthalten, ist es leicht ersichtlich, daß die Formoltitrierung von B, welche Lösung 0,91% ihres Gesamtstickstoffes mehr als die Lösung A bei der Entfärbung verloren hat, durch Addition einer entsprechenden Menge von Carboxylgruppen korrigiert werden muß. Mit anderen Worten, falls die Formoltitrierung ohne vorhergehende Entfärbung ausgeführt werden könnte, dann würde die gesuchte Differenz entsprechend größer geworden sein, also ungefähr 14% des Gesamtstickstoffes entsprochen haben. Es handelt sich also hier um solche kleine Korrektionen, die gewöhnlich gar keine Bedeutung haben.

Wir möchten jedoch noch darauf aufmerksam machen, daß bei der sekundären Spaltung wahrscheinlich Ammoniak abgespalten wird, indem stickstofffreie Verbindungen gebildet werden, unter welchen auch solche vorkommen können, die mit der Salz-

säure verflüchtigt und dadurch der Formoltitrierung entzogen werden. Auch aus diesem Grunde wird die Formoltitrierung in B und somit die gesuchte Differenz zu niedrig ausfallen. Der gefundene Wert für die Menge des peptidgebundenen Stickstoffes wird daher immer ein Minimalwert sein, und derselbe kommt dem wirklichen Wert desto näher, je geringeren Umfang die sekundäre Spaltung gehabt hat. Von der ungefähren Größe derselben kann man sich durch Vergleichung von den mit Silberchlorid vor und nach der Salzsäurespaltung gefällten Stickstoffmengen einen Begriff machen.

---

## Nachschrift.

Da es auch bei präparativen Arbeiten mit den Säurespaltungsprodukten der Proteine sehr vorteilhaft sein würde, wenn man ohne wesentlichen Verlust an Stickstoff die Lösung von dem größten Teil der farbigen Verunreinigungen befreien könnte, haben wir versucht, eine größere Portion der obenerwähnten Salzsäurespaltungsprodukte durch Silbersalze zu entfärben. Silbernitrat ist hier nicht anwendbar, weil die dadurch zugeführte Salpetersäure nicht leicht wieder entfernt werden kann. Schütteln mit festem Silbercarbonat, welches übrigens sehr zweckmäßig sein würde, gibt erst dann das gewünschte Resultat, wenn so viel Silbercarbonat zugesetzt worden ist, daß alle Salzsäure neutralisiert und die Flüssigkeit neutral oder schwach alkalisch geworden ist; unter diesen Umständen wird aber ein Teil des Stickstoffes mit dem Silberchlorid niedergeschlagen. Das Schütteln mit festem Silbersulfat hat bei weitem nicht eine so gute Wirkung wie die Fällung mit einer wässerigen Silbersulfatlösung. Da Silbersulfat aber sehr schwer löslich ist, erhält man auf diese Weise eine ziemlich bedeutende Flüssigkeitsmenge. Es erhellt aber aus dem unten beschriebenen Versuche, daß es möglich ist, ohne wesentlichen Verlust an Stickstoff auf diesem Wege den größten Teil der farbigen Verunreinigungen zu entfernen. Wir zweifeln daher nicht daran, daß es viele Fälle geben wird, bei welchen eine solche Entfärbung in saurer Flüssigkeit durch Silbersulfatlösung (wenn man dies wünscht, mit einer Fällung der zugeführten Schwefelsäure durch

die äquivalente Barytmenge kombiniert) von gutem Nutzen sein wird.

Das übrig gebliebene, von den obenerwähnten salzsauren Lösungen der Spaltungsprodukte von Casein, Eieralbumin und Serumalbumin wurde zusammengemischt und die Gesamtstickstoffmenge in 5 ccm der tief dunkelbraunen, selbst in dünnen Schichten ganz undurchsichtigen Mischung bestimmt. $^1/_2$ l dieser Mischung wurde in einen geräumigen Kolben gebracht, und es wurden 20 ccm ca. $^4/_{10}$ n-Barytlauge und darauf nach und nach und unter gutem Schütteln 160 ccm Silbersulfatlösung zugesetzt (8 ccm dieser Lösung entsprachen beinahe 1 ccm der Barytlauge). Da diese Mengen offenbar für den gewünschten Zweck zu gering waren, wurden weitere 50 ccm Barytlauge und 400 ccm Silbersulfatlösung zugesetzt, aber auch darnach war die Entfärbung sehr mangelhaft und ein klares Filtrat konnte nicht erhalten werden. Erst nach weiterem Zusatz von 100 ccm Barytlauge und 800 ccm der Silbersulfatlösung ließ sich der Niederschlag auf Papiermasse vor der Saugpumpe leicht filtrieren und mit Wasser waschen. Das Filtrat und die Waschwässer, die völlig klar waren, wurden im Vakuum bis zu ca. $^1/_4$ l eingeengt und darauf die Lösung in einem Meßkolben bis zu $^1/_2$ l aufgefüllt. Die Lösung, welche kein Barium, aber eine Spur von Schwefelsäure enthielt, hatte in dünnen Schichten eine rein gelbe Farbe, in dickeren Schichten zugleich einen deutlichen bräunlichen Schein.

Während 5 ccm der ursprünglichen Lösung 25,00 mg Stickstoff enthielten, wurden in 5 ccm der entfärbten Lösung 24,55 mg Stickstoff gefunden.

Der Verlust an Stickstoff ist also 0,45 mg oder 1,8% des Gesamtstickstoffes gewesen.

# Wirkung der Viscositätsänderungen des Blutes auf die Harnabsonderung.

Untersuchungen
von
**Fil. Bottazzi, G. D'Errico und G. Jappelli.**

(Aus dem physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel.)

*(Eingegangen am 29. November 1907.)*

## I. Einleitung und Ziel der Untersuchungen.

Die künstlich (durch Injektion von Kolloiden und von hypo- oder hypertonischen Salzlösungen) hervorgerufenen Schwankungen der Viscosität des Blutes können theoretisch auf zweierlei Weise Änderung der Nierensekretion bewirken: entweder modifizieren sie die Blutzirkulation in den Nieren, oder sie veranlassen Schwankungen im physikalisch-chemischen Zustand der im Blutplasma enthaltenen Krystalloide.

Das Ziel dieser Untersuchungen bestand darin, ohne näheres Eingehen auf eventuelle Änderungen des Kreislaufes in den Nieren, zu untersuchen, ob bei einer durch Injektion von Lösungen von (gereinigter) Gelatine in die Venen veranlaßten Zunahme der Menge der Kolloide im Blute die Sekretion der Elektrolyten durch die Nieren bemerkenswerte Modifikationen erfahre. Zuvor wollten wir jedoch durch einige Experimente feststellen, wie sich die Nierensekretion unter entgegengesetzten Bedingungen verhält, d. h. wenn man im Organismus einen Zustand von hydrämischer Plethora herbeiführt; letzteren erzielten wir durch Injektion von verschieden großen Mengen einer hypertonischen NaCl-Lösung in die Venen.

## II. Experimente.

### 1. Experiment (8. Januar 1906).

Hund von 16 kg Gewicht (hungert seit sechs Tagen).

Fistel des rechten Harnleiters (während der Operation findet spontane Entleerung der Blase statt).

Abschnitte des Experimentes.

I. Entnahme einer Probe von normalem Arterienblut, das sogleich defibriniert und zentrifugiert wird (Serum I).

II. Injektion von 250 ccm einer (8 proz.) hypertonischen NaCl-Lösung in die V. cruralis und unmittelbar hierauf erfolgende Entnahme einer zweiten Blutprobe, die das Serum II liefert.

III. Nach Verlauf von zwei Stunden seit der Injektion Entnahme einer dritten Blutprobe, die das Serum III liefert.

Während der drei Abschnitte des Experimentes wird der durch die rechte Niere abgesonderte Harn aus der Fistel des Harnleiters in Bruchteilen aufgefangen, wie aus der nebenstehenden Tabelle I ersichtlich ist; der Harn der linken Niere wird nach Tötung des Tieres der Blase entnommen.

### 2. Experiment.

Hund von 15 kg Gewicht (hungert seit ca. sieben Tagen).

Fistel des rechten Harnleiters.

Abschnitte des Experimentes.

I. Entnahme einer Probe von Arterienblut (30 ccm), das wir spontan gerinnen lassen. So erhalten wir das klare und nicht durch Hämoglobin gefärbte Serum (I).

II. Injektion von 200 ccm einer 8 proz. hypertonischen NaCl-Lösung in die V. cruralis. Unmittelbar darauf Entnahme einer Blutprobe, die durch spontane Gerinnung das Serum II liefert.

III. Zwei Stunden nach der Injektion Entnahme einer dritten Blutprobe, die ebenfalls durch spontane Gerinnung das Serum III liefert.

Nach der hypertonischen Injektion werden dem rechten Harnleiter drei Harnproben entnommen (siehe Tabelle II S. 424); nach Tötung des Tieres wird der Blase, die bei Beginn des Experimentes entleert worden war, der durch die linke Niere abgesonderte Harn entnommen.

### 3. Experiment (23. Mai 1906)

Hund von 8 kg Gewicht.

Doppelte Harnleiterfistel.

Intravenöse Injektion von Gelatine und von hypertonischer NaCl-Lösung.

Tabelle I. (1. Experiment.)

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut, defibriniert und zentrifugiert | | | Harn | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{36,4^0}$ des Serums | $t_{36^0,9}$ des Serums (Ausflußzeit durch das Ostwaldsche Viscosimeter) | rechte Niere (Kathet.) Volumen in ccm | rechte Niere (Kathet.) Schnelligkeit der Absonderung in ccm pro 1′ | rechte Niere (Kathet.) $\Delta$ | linke Niere Volumen in ccm | (Blase) $\Delta$ | |
| I | Normale | 0°,635 | $= 132 \times 10^{-4}$ | = 1′,33″,8 | 19<br>22 | 3,33<br>3,66 | 0°,930 | | | Die Abflußzeit des destillierten Wassers aus der von uns bei unseren Untersuchungen verwendeten Capillare ist gleich 1′, 0″, 0 |
| II | Sogleich nach intravenöser Injektion von 250 ccm von 8 proz. NaCl-Lösung | 0°,805 | $= 207 \times 10^{-4}$ | = 1′,9″,2 | 17,50<br>23,00<br>21,00 | 4,40<br>3,83<br>2,62 | 0°,790 | | | Flüssige Entleerungen |
| III | Zwei Stunden nach der erwähnten Injektion | 0°,810 | $= 184 \times 10^{-4}$ | = 1′,17″,6 | 27<br>129,50 | 0,33 | 1°,130<br>246,50 ccm | 117 | 0°,885 | In der Blase gefundener und von der linken Niere während der ganzen Dauer des Experimentes abgesonderter Harn |

**Tabelle II. (2. Experiment).**

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut (spontane Gerinnung): $\Delta$ des Serums | Blut: $K_{29,5^{\circ}C}$ des Serums | Blut: $t_{36,8^{\circ}C}$ des Serums | Harn, rechte Niere (Kathet.): Volumen in ccm | Harn, rechte Niere: Geschwindigkeit der Absonderung in ccm p. Minute | Harn, rechte Niere: $\Delta$ | Harn, linke Niere (Blase): Volumen in ccm | Harn, linke Niere: $\Delta$ | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Normale | 0°,620 | $133 \times 10^{-4}$ | 1′ 37″ 8 | — | — | | } ccm 45 (für I–III) | | Zu den Untersuchungen über die Abflußzeit verwendeten wir dieselbe Capillare wie beim vorigen Experiment |
| II | Sogleich nach intravenöser Injektion von 200 ccm einer 8 proz. NaCl-Lösung | 0°,740 | $180 \times 10^{-4}$ | 1′ 17″ 6 | { 19<br>20 | 0,90<br>0,95 | 1°,200<br>1°,220 | ccm 45 | 1°,720 | Der Harn der linken Niere wurde nach Tötung des Tieres der Blase entnommen |
| III | Zwei Stunden nach der erwähnten Injektion | 0°,710 | $183 \times 10^{-4}$ | 1′ 28″ 2 | 7 | 0,10 | 2°,060 | | | |
| | | | | | ccm 46 | | | ccm 45 | | |

12 h nachm. Entnahme einer Probe von normalem Blut (I).

12 h 5′ „ Langsame intravenöse Injektion von 75 ccm einer 10 prozentigen hypertonischen NaCl-Lösung.

12 h 50′ „ Entnahme der Harnprobe (II).

12 h 55′ „ Intravenöse Injektion von 50 ccm einer 10 prozentigen Gelatinelösung.

1 h 7′ Entnahme der Blutprobe III. — Entnahme der Harnprobe III.

2 h 25′ „ Entnahme des Harns IIIa.

2 h 55′ „ Entnahme des Harns IIIb.

2 h 58′ „ Injektion von 40 ccm derselben Gelatinelösung.

4 h „ Entnahme des Blutes IV.

4 h 40′ „ Entnahme des Harns IV.

4 h 45′ „ Intravenöse Injektion von weiteren 50 ccm der hypertonischen NaCl-Lösung.

6 h 35′ „ Entnahme des Harns V. Das Tier wird getötet und die Blutprobe V entnommen.

(Siehe Tabelle III S. 426.)

### 4. Experiment (7. Juni 1906).

Hund von 10 kg Gewicht.

Dopeplte Harnleiterfistel.

Intravenöse Injektionen von (10%) NaCl-Lösung und von (20%) Gelatinelösung.

2 h 45′ „ Entnahme einer Blutprobe (I).

3 h 10′ „ Intravenöse Injektion von 50 ccm einer 20 prozentigen Gelatinelösung.

3 h 50′ „ Entnahme einer Blutprobe (II).

4 h 10′ „ Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 10 prozentigen NaCl-Lösung.

5 h 35′ „ Entnahme einer Harnprobe (IIIa).

6 h 35′ „ Entnahme einer Blutprobe (IIIb).

6 h 35′ „ Entnahme einer Harnprobe (IIIb).

(Siehe Tabelle IV S. 427.)

## Tabelle III. (3. Experiment.)

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut | | | | Harn | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^\circ C}$ des Serums | $t_{37^\circ C}$ des Serums | $t_{37^\circ C}$ des Blutes in toto | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | $t_{37^\circ C}$ | |
| I | Normale | 0°,665 | $137 \times 10^{-4}$ | 1',45'',3 | 5',46'',4 | — | — | — | Capillare der zu diesen Untersuchungen verwendeten viscosimetrischen Röhre: $t$ des $H_2O$ bei 37° C = 1',0'',0 |
| II | Intravenöse Injektion von 75 ccm einer 10 proz. NaCl-Lösung | — | — | — | — | 1°,125 | $238 \times 10^{-4}$ | 1',4'',2 | |
| III | Intravenöse Injektion von 50 ccm einer 10 proz. Gelatinelösung | 0°,775 | $152 \times 10^{-4}$ | 2',8'',0 | 6',49'',2 | 1°,220 | $196 \times 10^{-4}$ | 1',53'',4 | |
| IIIa | 28' nach der erwähnten Injektion | — | — | — | — | 1°,200 | $191 \times 10^{-4}$ | 1',34'',0 | |
| IIIb | 49' nach der erwähnten Injektion | — | — | — | — | 0°,845 | $183 \times 10^{-4}$ | 1',25'',4 | |
| IV | Intravenöse Injektion von weiteren 40 ccm derselben Gelatinelösung | 0°,700 | $145 \times 10^{-4}$ | 2',59'',3 | 10',51'',6 | 0°,985 | $143 \times 10^{-4}$ | 3',37'',0 | |
| V | Intravenöse Injektion von weiteren 50 ccm der hypertonischen 10 proz. NaCl-Lösung | — | — | — | — | — | — | — | Im Harn zeigte sich deutlich die Anwesenheit von Gelatine. |
| Va | Ungefähr zwei Stunden nach der erwähnten Injektion | 0°,785 | $163 \times 10^{-4}$ | 2',16'',0 | 7',12'',3 | 1°,310 | $194 \times 10^{-4}$ | 1',64'',6 | |

Tabelle IV. (4. Experiment.)

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut | | | | Harn | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^0 C}$ des Serums | $t_{37^0 C}$ des Serums | $t_{37^0 C}$ des Blutes in toto | $\Delta$ | $K_{37^0 C}$ | $t_{37^0 C}$ | |
| I | Normale | 0°,625 | $130 \times 10^{-4}$ | 1′, 40″, 0 | 5′, 0″, 3 | — | — | — | Capillar des Viscosimeters $t$ des $H_2O$ bei 37° = 1′, 0″, 0 |
| II | Intravenöse Injektion von 50 ccm Gelatine (20 %) | 0°,670 | $134 \times 10^{-4}$ | 2′, 18″, 4 | 13′, 58″, 3 | — | — | — | Aus den Katheteren kommt kein Harn |
| III | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 10proz. NaCl-Lösung | — | — | — | — | — | — | — | Die Nierensekretion ist spärlich |
| IIIa | 1½ Stunde nach der erwähnten Injektion | — | — | — | — | 1°,350 | $192 \times 10^{-4}$ | 2′, 19″, 3 | |
| IIIb | 2 Stunden nach der erwähnten Injektion | 0°,775 | $168 \times 10^{-4}$ | 1′, 52″, 0 | 5′, 47″, 4 | 1°,545 | $205 \times 10^{-4}$ | 1′, 23″, 1 | |

**5. Experiment (13. Juni 1906).**

Hund von 8 kg Gewicht.

Doppelte Harnleiterfistel.

Intravenöse Injektionen von 10 prozentiger Gelatine in hypertonischer NaCl-Lösung (10%).

| | |
|---|---|
| 3 h 15′ nachm. | Entnahme einer Blutprobe (I). |
| 3 h 25′ „ | Intravenöse Injektion von 100 ccm der 10 prozentigen Gelatinelösung in 10 prozentischer hypertonischer NaCl-Lösung. |
| 3 h 35′ „ | Entnahme einer Harnprobe (II). |
| 3 h 50′ „ | Entnahme einer weiteren Harnprobe (IIa). |
| 4 h 50′ „ | Entnahme einer weiteren Harnprobe (IIb). |
| 4 h 55′ „ | Entnahme einer weiteren Blutprobe (IIc). |
| 6 h 5′ „ | Entnahme einer weiteren Blutprobe (IId). |
| 6 h 5′ „ | Entnahme einer letzten Harnprobe (IId). |

(Siehe nebenstehende Tabelle V.)

## III. Schlußfolgerungen.

Aus unseren Experimenten ergibt sich:

1. Daß nach intravenösen Injektionen von hypertonischer NaCl-Lösung a) die Schnelligkeit der Harnabsonderung zuerst zu- und dann abnimmt, b) die molekulare Konzentration des Harns zuerst ab- und dann zunimmt, c) der osmotische Druck und die elektrische Leitfähigkeit des Blutserums beträchtlich zunehmen und d) die Viscosität des Blutserums beträchtlich abnimmt.

2. Daß nach intravenösen Injektionen von Gelatinelösung die Viscosität des Blutserums und noch mehr die Viscosität des (defibrinierten) Blutes in toto beträchtlich zunimmt, auch wenn vor oder nach der Gelatine oder gleichzeitig mit ihr eine hypertonische NaCl-Lösung in die Venen injiziert wird.

3. Daß unter den bei 2. angeführten Bedingungen die Absonderung und die physiko-chemischen Eigenschaften des Harns keine sehr bemerkenswerten Unterschiede zeigen im Vergleich mit demjenigen, welcher nach Injektion der hypertonischen NaCl-Lösung allein entnommen wird. Nur beim 5. Experiment trat das Stadium nicht ein, in dem der Harn nach Injektionen hyper-

Tabelle V. (5. Experiment).

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | | | Harn | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^\circ C}$ des Serums | $t_{37^\circ C}$ des Serums | $t_{37^\circ C}$ des Blutes in toto | $\Delta$ | $K_{37^\circ C}$ | $t_{37^\circ C}$ | |
| I | Normale | 0°,615 | $116 \times 10^{-4}$ | 1′, 44″, 4 | 5′, 58″, 4 | — | — | — | |
| II | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 10proz. Gelatinelösung in 10proz. NaCl-Lösung | — | — | — | — | 1°,280 | $217 \times 10^{-4}$ | 1′, 39″, 0 | |
| IIa | 25′ nach der erwähnten Injektion | — | — | — | — | 1°,090 | $218 \times 10^{-4}$ | 1′, 26″, 2 | |
| IIb | 1 Stunde 25′ nach der erwähnten Injektion | — | — | — | — | 1°,030 | $216 \times 10^{-4}$ | 1′, 34″, 2 | |
| IIc | 1 Stunde 30′ nach der erwähnten Injektion | 0°,700 | $144 \times 10^{-4}$ | 2′, 28″, 2 | 11′, 22″, 4 | — | — | — | |
| IId | 1 Stunde 40′ nach der erwähnten Injektion | 0°,670 | $148 \times 10^{-4}$ | 2′, 13″, 4 | 12′, 45″, 1 | 1°,035 | $108 \times 10^{-4}$ | 1′, 54″, 4 | |

tonischer Lösungen Zunahme der Konzentration zeigt, als ob die Gelatine die Ausscheidung des Salzes verhindert hätte.

4. Daß in einigen Fällen der Harn, den man nach intravenösen Injektionen von Gelatinelösungen erhält, die vor oder nach der Injektion der hypertonischen NaCl-Lösung gemacht wurden, eine höhere als die normale Viscosität zeigt, was wohl beweisen würde, daß die injizierte Gelatine, wenigstens in kleiner Menge, durch die Nieren ausgeschieden wird.

5. Daß nach intravenösen Injektionen von Gelatine die mikroskopischen Untersuchungen des Blutes in letzterem eine Steigerung der Fähigkeit der roten Blutkörperchen nachweisen, sich geldrollenförmig zu ordnen; dies kann wohl die enorme Zunahme der Viscosität des Blutes in toto erklären.

---

# Wirkung des Adrenalins auf die Speichel- und Harnabsonderung.

Untersuchungen

von

**Fil. Bottazzi, G. D'Errico und G. Jappelli.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel.)

*(Eingegangen am 29. November 1907.)*

## I. Einleitung.

Bekanntlich beobachtet man nach Reizung des N. chorda tympani zwei Arten von Wirkungen in der Submaxillardrüse: Speichelabsonderung und Erweiterung der Blutgefäße der Drüse.

Ferner ist bekannt, daß man die sekretorische Wirkung leicht durch Atropin lähmen, sowie durch Reizung des Halssympathicus Zusammenziehung der Blutgefäße der Drüse und spärliche Speichelabsonderung bewirken kann.

Der wichtigste sekretorische Nerv der Submaxillardrüse ist aber ohne Zweifel die Chorda tympani. Aus diesem Grunde war es interessant, zu untersuchen, wie sich die Speichelabsonderung nach Reizung der Chorda tympani bei einem Hunde gestaltet, dessen Blutgefäße der Drüse sich in einem Zustand der größten Zusammenziehung befinden.

Wir haben versucht, diese experimentellen Bedingungen dadurch herbeizuführen, daß wir durch den Whartonschen Gang eine kleine Dosis Adrenalin injizierten, nachdem wir durch Reizung der Chorda tympani eine Probe von normalem Speichel erhalten hatten.

Wir operierten an vier großen Hunden, und da die Experimente immer konstante Resultate ergaben, hielten wir es für überflüssig, noch mehr Tiere zu töten.

Bekanntlich hat die Blutzirkulation einen größeren Einfluß auf die Funktion der Niere als auf die irgend einer anderen Drüse. In dieser Hinsicht sind schon zahlreiche Experimente gemacht worden, deren Anführung wir für überflüssig halten.

Bis jetzt war ein Mittel, um Zusammenziehung der Blutgefäße der Niere und mithin Verminderung des Zuflusses von oxygeniertem Blut zu bewirken, noch nicht versucht worden, nämlich die Einwirkung des Adrenalins auf das Organ. Wir haben es versucht, und dabei wählten wir, um die Wirkungen des Adrenalins auf den allgemeinen Kreislauf zu vermeiden, den Weg der Injektion in den Harnleiter. Das Adrenalin war meistens in 9‰ NaCl-Lösung gelöst; wir befolgten also dieselbe Methode, wie wir sie bei unseren Experimenten bezüglich der Speichelabsonderung befolgt haben.

Der vorbereitende Teil war bei den einzelnen Experimenten stets verschieden, wie ein Blick auf die Protokolle zeigt; deshalb beschränken wir uns hier auf eine kurze Beschreibung des allgemeinen Verfahrens, das wir bei allen Experimenten beobachtet haben.

Im allgemeinen wurde bei den hungernden Hunden eine beiderseitige Fistel des Harnleiters angelegt, wobei der Einschnitt auf dem Rücken erfolgte, um das Peritoneum nicht zu verletzen und so die heftigen Gefäßreflexe zu vermeiden, die Verletzungen des Peritoneums unfehlbar hervorrufen. Hierauf wurden in die zentralen Stümpfe der Harnleiter zwei Katheteren von passendem Durchmesser eingeführt und darin durch Ligaturen gehörig befestigt. Sodann wurden die Ränder der Wunden einander genähert und die langen Katheteren mit den äußeren Enden in zwei kleine an den Seiten des Tieres unbeweglich stehende Gefäße eingetaucht; letztere waren dazu bestimmt, den von einer jeden Niere abgesonderten Harn aufzufangen.

Die bis zur Körpertemperatur erwärmte Adrenalinlösung wurde dann vermittels einer Luerschen Glasspritze unter sanftem Druck in einen Katheter injiziert und einige Minuten lang immer unter Druck gehalten; hierauf wurde die Spritze herausgezogen, und wir ließen die überschüssige Flüssigkeit, die nicht in der Niere zurückbehalten werden konnte, wieder abfließen.

Um die Nierensekretion zu erregen, machten wir intravenöse Injektionen von Natriumchlorid- oder Harnstofflösungen.

Bei den ersten acht Experimenten wurden die intravenösen Injektionen vor der Adrenalininjektion gemacht, und zwar geschah dies zu folgendem Zweck. Wir wollten sicher sein, daß die Niere, auf die wir das Adrenalin einwirken ließen, im Augenblick der Injektion des letzteren wirklich funktionierte, und deshalb erregten wir die Nierensekretion vermittels der intravenösen Injektionen. Dabei wählten wir für die Injektion des Adrenalins in den Harnleiter stets diejenige Niere, aus welcher der Harn reichlicher floß, damit nachher die Folgen der Einwirkung des Adrenalins sich um so deutlicher zeigten. Natürlich ist es nicht leicht zu bewirken, daß eine gelöste Susbtanz durch den Ureter und das Nierenbecken hindurch in die Kanälchen einer Niere eindringt, die sich im Zustand einer starken Funktionstätigkeit befindet, weil man den Druck der Harnabsonderung überwinden muß. Allein wir glaubten, es würde genügen, wenn wir die Adrenalinlösung bis in die unteren Wege beförderten, d. h. ins Becken und in die Gegend der Nierenkelche, wo sie sich dann mit dem Harn vermischen würde, und die Substanz innerhalb einer gewissen Zeit durch Diffusion das Epithel der Kanälchen passieren und mit den Gefäßwänden in Berührung treten könnte. Wenn man auf diese Weise verfährt, so muß gewiß die Menge Adrenalin, die dort hingelangt und ihre zusammenziehende Wirkung auf die Nierengefäße ausübt, sehr gering sein, und vielleicht wird nur ein Teil der letzteren ihrem Einfluß unterliegen. Wenn aber eine Einwirkung beobachtet wird, z. B. eine Verminderung der Schnelligkeit der Harnabsonderung, so ist sie gewiß eine Folge der Injektion des Adrenalins, da die Niere schon reichlich funktionierte. Injiziert man dagegen das Adrenalin, ehe die Nierensekretion durch die intravenösen Injektionen von NaCl oder Harnstoff erregt worden ist, so kann man, z. B. wenn aus dem Harnleiter, durch den man das Adrenalin injiziert hat, kein Harn oder weniger Harn als aus dem anderen ausfließt, nie sicher sein, ob dies eine Folge der Einwirkung des Adrenalins oder irgend eines Hindernisses ist, das den Abfluß des Sekrets der Niere gehemmt oder vermindert hat. Allerdings läßt sich nach Beendigung des Experimentes konstatieren, ob ein mechanisches Hindernis (z. B. Bildung eines Blutkoagulums im Nierenbecken, wie es zuweilen vorkommt, oder eine Biegung des Harnleiters usw.) vorhanden ist oder nicht.

Dennoch haben wir auch einige Experimente ausgeführt, bei denen wir Adrenalin durch den Harnleiter injizierten, ehe wir die Nierensekretion erregten, und es folgt nachher ein Bericht über die dabei erhaltenen Resultate.

Die Tiere (Hunde) wurden stets ohne Anwendung irgend welchen Anaestheticums operiert.

Bei dem aufgefangenen Harn, wie auch bei dem Blutserum, wurden Gefrierpunkterniedrigung und elektrische Leitfähigkeit bestimmt.

Die für die Schnelligkeit der Sekretion in den Tabellen angegebenen Werte lassen sich vollkommen miteinander vergleichen, weil wir stets gleichmäßig den ganzen aus den beiden Katheteren tröpfelnden Harn in verschiedenen Gefäßen auffingen; dann wurde das Volumen des beiderseitigen Harns gemessen und durch die Zeit (Minuten) dividiert, welche das Auffangen in Anspruch genommen hatte. Das partielle Volumen sowie das Gesamtvolumen des Harns sind der Einfachheit halber in den Tabellen nicht angegeben.

## II. Experimente.

### *A. Experimente über die Speichelabsonderung.*

#### 1. Experiment (21. November 1905).

Hund von 18 kg Gewicht. — Linksseitige Fistel des Whartonschen Ganges. Präparierung des N. Chorda tympani. — Adrenalisierung der linken Submaxillardrüse.

2 h 30′ nachm. Reizung der Chorda tympani, alle 2 Minuten 15″ lang. Entnahme einer Probe von normalem Speichel. 10′ Ruhe.

2 h 50′ ,, Injektion von 5 ccm Adrenalinlösung (1 : 30 000) durch den Whartonschen Gang unter leichtem Druck. Nach wenigen Sekunden gelingt die Aspiration der injizierten Flüssigkeit vermittels derselben Spritze, die in situ liegen bleibt.

2 h 55′ ,, Nochmalige Reizung der Chorda, dieses Mal aber mit absolut negativem Ergebnis. Weitere einander im Abstand von 10′ folgende Reizungen erweisen sich gleichfalls als erfolglos, obgleich die

Ausspülung der Drüse durch Injektion von 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung in den Whartonschen Gang versucht worden ist.

3 h 55′ nachm. Endlich erscheinen in den Kanülen nach intensiver Reizung der Chorda einige Tropfen eines dicken zähen Speichels. Die erhaltene Menge genügt nicht für die physikalisch-chemischen Bestimmungen.

2. Experiment (22. November 1905).

Das Experiment wird an demselben Hunde gemacht, der am vorhergehenden Tage dazu verwendet wurde. Nach einem vergeblichen Versuch, aus der linken Submaxillardrüse durch Reizung des entsprechenden N. Chorda Speichel zu erhalten, wird das Tier rechtsseitig operiert.

3 h 30′ nachm. Intermittierende Reizung des rechten N. Chorda, Entnahme des Speichels (I) und der entsprechenden Blutprobe. — Zehn Minuten Pause.

3 h 50′ „ Injektion von 5 ccm-Adrenalinlösung (1 : 10000) durch den Whartonschen Gang. Die Injektion wird ganz langsam und unter schwachem Druck gemacht, wobei dafür Sorge getragen wird, daß der größte Teil der injizierten Flüssigkeit wieder aspiriert wird.

4 h „ Reizung des N. Chorda; es wird aber nicht ein einziger Tropfen Speichel aufgefangen.

4 h 25′ „ Nach einer Blutentziehung von 100 ccm Blut erfolgt intravasculäre Injektion von 100 ccm einer isotonischen NaCl-Lösung und 10′ später Entnahme der Blutprobe (II).

5 h 20′ „ Nach Reizung des N. Chorda kommen nach einer langen Latenzperiode einige Tropfen Speichel heraus.

5 h 20′ „ Entnahme einer weiteren Blutprobe (III).

5 h 25′ „ Entnahme der Blutprobe (IV); das Tier wird getötet.

Tabelle I. (2. Experiment.)

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut Δ des Serums | Speichel der Submaxillardrüse nach Reizung der Chorda tympani Δ | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| I | Normale | 0°,610 | 0°,405 | Die Absonderung von Speichel aus der Submaxillardrüse erfolgte nicht nach Adrenalisierung der Drüsen. — Die injizierte NaCl-Lösung hat Δ = 0°,505. |
| II | Adrenalisierung der Submaxillardrüse | — | — | |
| III | 10' nach intravasculärer Injektion von 100 ccm einer isotonischen NaCl-Lösung (nach vorausgegangener Entziehung von 100 ccm Blut) | 0°,590 | — | |
| IV | 1 Stunde nach der Injektion | 0°,590 | — | |
| V | 65' nach der Injektion | 0°,590 | — | |

3. Experiment (5. Dezember 1905).

Hund von 19 kg Gewicht. — Injektion von Adrenalin in den Whartonschen Gang und Reizung des N. Chorda.

2 h 40' nachm. Sanfte Reizung des linken N. Chorda und Entnahme des Speichels I. Es wird beobachtet, daß auch nach Aufhören der Reizung fortwährend Speichel aus dem entsprechenden Whartonschen Gang tröpfelt.

2 h 45' „ In diesen Gang werden allmählich 5 ccm einer isotonischen NaCl-Lösung injiziert. Die Speichelabsonderung dauert fort.

3 h „ Auch in den Whartonschen Gang der rechten Seite wird eine Kanüle gelegt und die entsprechende Speichelprobe vermittels Reizung des N. Chorda erhalten.

4 h „ Injektion von 5 ccm einer (1 : 50 000) Adrenalinlösung in den linken Gang, aus dem noch spontan einige Tropfen Speichel hervordringen. Diese spontane Sekretion hört nicht nur auf, sondern wiederholte sogar energische Reizungen des N. Chorda erweisen sich als unwirksam.

4 h 15′ nachm. Injektion von 5 ccm einer (1 : 100 0000) Adrenalinlösung in den rechten Whartonschen Gang.

4 h 20′ „ Einige Tropfen Speichel werden erst nach verlängerten energischen Reizungen des N. Chorda erhalten. Auch in diesem Falle wird beobachtet, daß die Latenzperiode außerordentlich lang ist.

Bei der Obduktion zeigen die Submaxillardrüsen ein normales Volumen. Beim Durchschneiden erscheinen sie sehr blaß. Kleine Stücke von beiden Drüsen werden für die histologische Untersuchung in Zenkerscher Flüssigkeit erhärtet.

4. Experiment (17. Januar 1906).

Hund von 22 kg Gewicht. — Beiderseitige Fistel des Whartonschen Ganges. — Auf der linken Seite wird der tympanolinguale Stamm isoliert und der periphere Stumpf nach seiner Durchschneidung gereizt.

3 h 10′ nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

3 h 15′—3 h 19′ nachm. Der tympano-linguale Stamm wird während jeder Minute 20″ lang gereizt und so die Speichelprobe I erhalten.

3 h 29′ nachm. Injektion von ca. 5 ccm einer (1 : 50 000) Adrenalinlösung in physiologischer Kochsalzlösung, unter Überwindung des Sekretionsdruckes, in den rechten Whartonschen Gang, aus dem vor der Injektion einige Tropfen Speichel spontan hervordrangen. Einige Minuten nach der Injektion wird der N. Chorda tympani gereizt, aber es kommt kein Speichel; der linke tympano-linguale Stamm wird gereizt, und auf diese Weise wird die Speichelprobe III entnommen.

4 h 9′ „ Infolge energischer Reizungen der rechten Chorda tympani werden einige Tropfen Speichel aufgefangen. Es gelingt jedoch nicht, eine für die physikalisch-chemischen Bestimmungen ausreichende Menge zu erhalten.

4 h 30′ „ Das Tier wird getötet und die Submaxillardrüsen werden exstirpiert; kleine Schnitte davon werden für die histologischen Untersuchungen fixiert.

Tabelle II. (4. Experiment.)

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Speichel | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{29,5^\circ C}$ des Serums | rechter (Adrenal.) | | linker | | |
| | | | | $\Delta$ | $K$ | $\Delta$ | $K_{29,5^\circ C}$ | |
| I | Normale | 0°,551 | 143×10⁻⁴ | 0°,555 | 133×10⁻⁴ | 0°,555 | 133×10⁻⁴ | |
| II | Injektion von 5 ccm Adrenalin (1 : 50000) in den rechten Whartonschen Gang. Reizung der Chorda tympani derselben Seite | — | — | fehlt | | — | — | |
| III | Reizung des linken tympano-lingualen Stammes | — | — | fehlt | | 0°,575 | 139×10⁻⁴ | |

**Untersuchung der Drüsen.**

Die mit Adrenalin behandelte Drüse ist ungefähr um die Hälfte größer als die andere. Beim Schnitt bemerkt man im Mittelpunkt einiger Drüsenlobuli kleine Blutextravasate. Bei der mikroskopischen Untersuchung $\left(\text{Zeiß } \frac{\text{Ok. 6 comp}}{\text{Obj. imm. } 1/12}\right)$ bemerkt man wohl begrenzte Drüsenacini und beträchtlich angeschwollene Zellelemente, die Körnchen in Hülle und Fülle enthalten.

Die linke Drüse, die nicht mit Adrenalin behandelt, aber gleichfalls gereizt wurde, ist viel kleiner als die rechte. Bei der mikroskopischen Untersuchung der frischen Präparate zeigen sich Acini, die nicht so deutlich begrenzt, deren Zellen aber gleichfalls reich an Sekretionskörnchen sind, die zum Teil aus den Drüsenelementen ausgetreten sind.

### *B. Experimente über die Harnabsonderung.*

1. Experiment (10. November 1905).

Bastardhund, 7 kg Gewicht. — Bei dem Tiere wird eine beiderseitige Fistel des Harnleiters angelegt.

3 h 25′ nachm. Intravenöse Injektion von 10 g Harnstoff in physiologischer Lösung. Sofort nach der Injektion beginnt Harn aus den Katheteren zu tröpfeln; der Harn der rechten Niere ist etwas blutig, der der linken rein.

3 h 30′—3 h 45′ „ Entnahme einer Harnprobe (I) aus der linken Niere.

**4 h nachm.** Injektion von 10 ccm Adrenalinlösung (1 : 20 000) in den linken Ureter. Nach der Injektion fließt etwas blutgefärbte Flüssigkeit aus dem Katheter, aber dann hört die Funktion der linken Niere plötzlich fast vollständig auf; die der rechten Niere dagegen dauert fort, ja sie nimmt sogar zu.

**4 h 15′ „** Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm derselben Harnstofflösung.

**4 h 16′—4 h 21′ „** Entnahme einer Harnprobe (III) aus der rechten Niere.

**4 h 21′—4 h 27′ „** Entnahme einer weiteren Probe (III a).

**4 h 27′—4 h 35′ „** Entnahme einer weiteren Probe (III b).

**4 h 35′—4 h 45′ „** Entnahme einer weiteren Probe (III c).

**4 h 45′—4 h 55′ „** Entnahme einer letzten Harnprobe aus der rechten Niere (III d).

**4 h 16′—4 h 55′ „** Auffangen des Harns, den die mit Adrenalin behandelte linke Niere während dieser ganzen Zeit abgesondert hat (III d).

Tabelle III. (1. Experiment.)

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Harn der rechten Niere | | Harn der linken Niere (*A*)[1] | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | $\Delta$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | |
| I | Intravenöse Injektion von 100 ccm (10 g) Harnstofflösung | — | — | 1°,190 | 1,33 | Der Wert von $\Delta$ des normalen Harns der rechten Niere wurde nicht bestimmt, weil er etwas blutig herauskam; es läßt sich aber annehmen, daß er dem des Harns der linken Niere gleich ist. |
| II | Injektion von 10 ccm einer Adrenalinlösung (1:20000) in den linken Harnleiter | — | — | — | — | |
| III | Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm derselben Harnstofflösung | 0°,890 | 4,00 | — | — | |
| III a | dto. | 0°,905 | 3,33 | — | — | |
| III b | dto. | 0°,920 | 2,50 | — | — | |
| III c | dto. | 1°,080 | 2,00 | — | — | |
| III d | dto. | 1°,165 | 1,30 | 0°,910 | 0,60 | |

[1]) *A* bedeutet: adrenalinisierte Niere.

Dieses Experiment hat ein beinahe schematisches Resultat ergeben. Da nach Einführung der Katheteren ein etwas blutiger Harn aus der rechten Niere kam und zu besorgen war, daß sich vielleicht auf der von diesem Harn durchlaufenen Strecke ein seinen Abfluß hemmendes Gerinnsel bilden könnte, wurde die Injektion des Adrenalins in den linken Harnleiter gemacht; durch letzteren floß ja reichlicher und sehr klarer Harn, dessen Wert von $\Delta$ beweist, daß seine molekulare Konzentration etwas niedrig war. Dies erklärt sich vielleicht aus dem Umstand, daß das Tier hungerte; im übrigen war es aber normal, wie auch die Geschwindigkeit der Sekretion normal war.

Nach der Injektion des Adrenalins hörte die Nierensekretion in der linken Niere auf; erst nach langer Zeit zeigten sich einige Tropfen Harn, die aus dem betreffenden Katheter herauskamen. Dagegen fuhr die rechte Niere stets fort, Harn abzusondern, ja ihre secernierende Tätigkeit nahm noch derart zu, daß anfangs unter dem Einfluß des ins Blut injizierten Harnstoffs die Geschwindigkeit der Absonderung 4 und 3,33 ccm pro Minute betrug. Entsprechend der größeren Geschwindigkeit der Sekretion wurde der Harn der rechten Niere weniger konzentriert ($\Delta = 0°,905$). Dann nahm allmählich mit der Abnahme der Sekretionsgeschwindigkeit gleichzeitig die molekulare Konzentration des Harns zu.

Während der ganzen Dauer des Experimentes wurde auch aus dem linken Harnleiter eine kleine Menge Harn aufgefangen, der, wie ein Blick auf die Tabelle III zeigt, einen sehr niedrigen Wert $\Delta$ (0°,910) hat. Es ist daher anzunehmen, daß dieser Harn hauptsächlich aus den Glomeruli stammt. Wahrscheinlich hat in diesem Falle das Adrenalin hauptsächlich auf die die Nierenkanälchen umgebenden Kapillargefäße eingewirkt; deshalb konnte die Funktion der Kanälchen nicht in demselben Maße eintreten wie die der Glomeruli, und der von der linken Niere abgesonderte Gesamtharn ist weniger konzentriert.

2. Experiment (15. November 1905).

Bastardhund von 8 kg Gewicht. — Es wird eine beiderseitige Fistel des Harnleiters angelegt.

2 h nachm. Entnahme einer Probe von normalem Blut (I).

**Tabelle IV. (2. Experiment.)**

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn der rechten Niere (A) | | | Harn der linken Niere | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37°}$ C des Serums | $\Delta$ | $K_{37°}$ C | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | $\Delta$ | $K_{37°}$ C | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | |
| I | Normale | 0°,580 | $102 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | |
| II | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 10 proz. Harnstofflösung | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| III | Injektion von 5 ccm physiol. Kochsalzlösung in den rechten Harnleiter | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| IV | Intravenöse Injektion von weiteren 200 ccm der Harnstofflösung | — | — | 0°,580 | $50 \times 10^{-4}$ | 0,50 | 1°,540 | $131 \times 10^{-4}$ | 0,13 | Der Harn der rechten Niere ist blutig und so erklärt sich zum Teil die niedrige elektrische Leitfähigkeit |
| V | Injektion von 5 ccm einer Adrenalinlösung (1 : 10000) in den rechten Harnleiter | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| VI | Intravenöse Injektion von 100 ccm physiol. Lösung | — | — | — | — | — | 1°,310 | $136 \times 10^{-4}$ | 1,63 | Da der Ausfluß aus der rechten Niere fast vollständig aufgehoben ist, erweist es sich als unmöglich, eine Harnprobe für die physikalisch-chemischen Untersuchungen aufzufangen |
| VII | Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm einer physiol. Kochsalzlösung | 0°,610 | $109 \times 10^{-4}$ | 0°,500 | $69 \times 10^{-4}$ | 0,25 | 0°,940 | $107 \times 10^{-4}$ | 1,70 | |

| | | |
|---|---|---|
| 2 h 30′ | nachm. | Intravenöse Injektion von 10 g Harnstoff in physiologischer Lösung (10%) (II). |
| 2 h 55′ | „ | Injektion von 5 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung in die rechte Niere. Während der Injektion nimmt der Ausfluß des Harns aus dem linken Katheter zu. Die Absonderung der rechten Niere hört nicht auf, sondern sie nimmt ab. Nach der Injektion fließen wenige ccm einer blutig gefärbten Flüssigkeit (III) aus dem rechten Katheter heraus. |
| 2 h 58′—3 h 29′ | „ | Intravenöse Injektion von weiteren 200 ccm derselben Harnstofflösung. |
| 3 h | „ | Aus der rechten Niere kommt fortwährend etwas blutiger Harn, weniger als aus der linken. |
| 3 h 24′—4 h | „ | Aus jedem Harnleiter wird eine Harnprobe (IV) aufgefangen. |
| 4 h | „ | Injektion von 5 ccm einer Adrenalinlösung (1 : 10 000) in die rechte Niere. Aus dem Katheter fließen einige wenige Kubikzentimeter einer blutigen Flüssigkeit wieder heraus (V). |
| 4 h 4′ | „ | Injektion von 100 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung in die V. femuralis. |
| 4 h 4′—4 h 22′ | „ | Der linken Niere wird eine weitere Harnprobe (VI) entnommen. Aus der rechten Niere kommt kein Harn heraus. |
| 4 h 26′ | „ | Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm der Harnstofflösung. |
| 4 h 28′—5 h 4′ | „ | Zwei weitere Harnproben (VII) werden entnommen: aus jedem Katheter eine. |
| 5 h 6′ | „ | Entnahme einer letzten Blutprobe (VII); das Tier wird getötet. |

Bei der Obduktion zeigt sich die linke Niere von normalem Aussehen; in der rechten Niere finden sich kleine Blutgerinnsel. Kleine Stücke der Nieren werden für die histologische Untersuchung in Flemmingscher Flüssigkeit erhärtet.

Bei diesem Experiment wollten wir sehen, ob die einfache Injektion einer NaCl-Lösung in den Harnleiter imstande ist, bemerkenswerte Veränderungen der Nierensekretion hervorzurufen; wir konnten konstatieren, daß sie wirklich eine leichte Abnahme des secernierten Harns bewirkt. Daß die zurückströmende Flüssigkeit ein blutiges Aussehen hat, ist nicht eine Wirkung der injizierten Substanz, sondern erklärt sich aus der mechanischen Einwirkung der Injektion, die stets unter Anwendung eines gewissen Druckes gemacht werden muß.

Einer Erklärung bedarf der hinsichtlich des osmotischen Druckes und der elektrischen Leitfähigkeit konstatierte Unterschied zwischen der Flüssigkeit, die nach Injektion der NaCl-Lösung aus der rechten Niere aufgefangen wurde, und dem Harn der linken Niere. Letzterer ist normal. Die aus der rechten Niere aufgefangene Flüssigkeit hat einen sehr niedrigen osmotischen Druck, der dem des Blutes gleich ist ($\Delta = 0°{,}580$), und auch eine außergewöhnlich niedrige elektrische Leitfähigkeit ($K_{87°} = 50 \times 10^{-4}$). Diese niedrige Leitfähigkeit erklärt sich gewiß, wenigstens zum Teil, durch die Anwesenheit vieler in der Flüssigkeit suspendierter roter Blutkörperchen. Der Wert von $\Delta$ läßt sich aber nur durch die Annahme erklären, daß die Funktion des Epithels der Kanälchen durch die Injektion der NaCl-Lösung in den Harnleiter verändert worden ist. Man kann auch annehmen, daß ein Teil dieser Lösung im Lumen der Kanälchen zurückgeblieben ist, sich dann mit dem Harn vermischt und dessen Konzentration vermindert hat. Dies würde aber den kleinen Wert von $\Delta$ nur zum geringsten Teil erklären können. Da aber eine chemische Einwirkung des Natriumchlorids ausgeschlossen ist, das schon ein normaler Bestandteil des Harns ist, so bleibt nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß die unter einem gewissen Druck injizierte Flüssigkeit eben infolge dieses Druckes eine schädliche Wirkung ausgeübt hat.

Wie dem auch sein mag, so viel ist gewiß, daß die NaCl-Lösung die Nierensekretion nicht zum Stillstand gebracht hat, während die folgende Injektion der Adrenalinlösung in den Harnleiter sie für eine gewisse Zeit ganz zum Stillstand brachte. Erst nach einer intravenösen Injektion von physiologischer Kochsalzlösung gelang es, eine kleine Menge Harn aus der rechten Niere zu erhalten, während die linke Niere fortwährend mit einer von

0,13—1,70 ccm in der Minute wachsenden Geschwindigkeit reichlich secerniert hatte und einen Harn lieferte, der anfangs normal und erst zuletzt weniger konzentriert war infolge der wiederholten intravenösen Injektionen von Harnstoff und Natriumchlorid.

Die zweite aus der rechten Niere erhaltene Harnprobe ist im Vergleich zu dem am Ende des Experimentes entnommenen Blute hypotonisch. Mithin hat, wie beim vorhergehenden Experiment, der spärliche Harn, den die mit Adrenalin behandelte Niere abgesondert hat, eine sehr niedrige molekulare Konzentration, die in diesem Falle nicht nur viel niedriger ist als die des Harns, den die normale Niere absondert, sondern auch niedriger als die des Blutes. Seine elektrische Leitfähigkeit ist stets eine sehr niedrige, was sich, wir wiederholen es, nur zum Teil aus der Anwesenheit der vielen roten Blutkörperchen und des Albumins im Harn erklären läßt.

### 3. Experiment (16. November 1905).

Bastardhund von 13 kg Gewicht. — Beiderseitige Fistel des Harnleiters.

2 h nachm. Entnahme einer Probe von normalem Blut (I).

2 h—3 h nachm. Aus den in die Harnleiter eingeführten Katheteren kommen nur einige Tropfen Harn, den wir nicht auffangen.

3 h nachm. Intravenöse Injektion von 100 ccm einer physiologischen (0,9%) Kochsalzlösung.

3 h 25′ „ Aus dem rechten Katheter tröpfelt kein Harn; aus dem linken kommt eine kleine Menge zum Vorschein.

3 h 27′ „ Injektion in den linken Harnleiter von 2 ccm einer Adrenalinlösung (1 : 10 000). Mit dem Auffangen der Harnproben wird begonnen. Während der Injektion beginnt auch aus dem rechten Katheter Harn zu fließen.

3 h 40′ „ Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung.

3 h 55′ „ Injektion von weiteren 2 ccm derselben Adrenalinlösung.

4 h 12'—4 h 24' nachm. Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung.

4 h 55' nachm. Mit der Entnahme der Harnproben wird aufgehört; es wird noch eine Blutprobe entnommen und so das Experiment beendigt.

Obduktion. Rechte Niere von normalem Aussehen; keine Coagula im Nierenbecken. Linke Niere cyanotisch gefärbt; ihr Volumen ist vergrößert. — Beim Schnitt erscheint sie kongestioniert, namentlich in der Marksubstanz; im Becken finden sich keine Coagula. (Siehe umstehende Tabelle V.)

In diesem Falle hörte die mit Adrenalin behandelte Niere, wahrscheinlich wegen der kleinen Menge des in den Harnleiter injizierten Adrenalins, nicht ganz und gar auf zu funktionieren, lieferte aber eine geringere Menge Harn; dabei war die Geschwindigkeit der Absonderung beträchtlich geringer als die der rechten Niere. Außerdem sind auch molekulare Konzentration und elektrische Leitfähigkeit des aus der linken Niere (*A*) erhaltenen Harns geringer als die des Harns der normalen Niere, was um so bemerkenswerter ist, weil das Volumen des ersten Harns bedeutend geringer war als das des zweiten.

### 4. Experiment (17. November 1905).

Hund von 9,500 kg Gewicht. — Anlegung einer beiderseitigen Harnleiterfistel.

3 h 10' nachm. Entnahme einer Blutprobe (I).

3 h 20' „ Intravenöse Injektion von 300 ccm einer physiologischen (0,9%) Kochsalzlösung. Aus den Katheteren tröpfelt reiner Harn, reichlicher aus dem linken.

3 h 25' „ Entnahme einer weiteren Blutprobe (II).

3 h 32' „ Injektion von 2 ccm Adrenalin (1 : 30 000) durch den linken Katheter. Nach der Injektion fließt eine blutige Flüssigkeit aus dem Katheter zurück.

3 h 32'—4 h 15' nachm. Die ersten Harnproben (III) werden entnommen.

4 h nachm. Entnahme einer dritten Blutprobe (III).

4 h 56' „ Intravenöse Injektion von weiteren 300 ccm einer (0,9%) physiologischen Kochsalzlösung.

Tabelle V. (3. Experiment.)

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn der rechten Niere | | | Harn der linken Niere (A) | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^\circ C}$ des Serums | $\Delta$ des Harns | $K_{37^\circ C}$ des Harns | Geschwindigkeit des Abflusses pro Minute | $\Delta$ des Harn | $K_{37^\circ C}$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | |
| I | Normale | 0°,600 | $104 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | |
| II | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer physiologischen (0,9 %) Kochsalzlösung | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| III | Injektion von 2 ccm Adrenalinlösung in den linken Katheter | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| IV | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer physiologischen (0,9 %) Kochsalzlösung | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| V | Injektion von weiteren 2 ccm Adrenalinlösung in den linken Katheter | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| VI | Intravenöse Injektion von weiteren 100 ccm einer (0,9 %) physiologischen Kochsalzlösung | 0°,615 | $109 \times 10^{-4}$ | 1°,390 | $210 \times 10^{-4}$ | 0,23 | 1°,230 | $178 \times 10^{-4}$ | 0,09 | |

5 h nachm. Entnahme einer vierten Blutprobe (IV).

4 h 26'—5 h nachm. Entnahme von zwei weiteren Harnproben (IV).

Obduktion: Magen und Darmrohr leer. Rechte Niere normal; linke vergrößert, hyperämisch. (Siehe Tabelle VI.)

Dieses Experiment hat ein Resultat ergeben, das teilweise mit dem vorhergehenden übereinstimmt. Behufs Erregung der Nierensekretion wurde eine 0,9 proz. NaCl-Lösung ins Blut injiziert. Das Adrenalin wurde in kleiner Menge (2 ccm) und in einer Lösung von mittlerer Verdünnung (1 : 30 000) durch den Harnleiter derjenigen Niere (der linken) injiziert, die gerade angefangen hatte, reichlicher zu secernieren und einen sehr klaren Harn lieferte, damit die Wirkung überzeugender zutage trete.

Es zeigte sich auch eine ähnliche Wirkung wie bei dem vorigen Experiment; sowohl die beiden ersten als die beiden zweiten aufgefangenen Harnproben zeigen einen beträchtlichen Unterschied in der Geschwindigkeit der Absonderung, die bei der mit Adrenalin behandelten Niere viel geringer ist.

Hinsichtlich der molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit zeigen die beiden ersten Proben auch einen Unterschied, der dem beim vorigen Experiment konstatierten analog ist; jene sind nämlich bei dem Harn, den die mit Adrenalin behandelten Niere absonderte, geringer, als bei dem von der anderen abgesonderten Harn. Bei den zweiten Proben aber zeigen sich sowohl der osmotische Druck als auch die elektrische Leitfähigkeit geringer bei dem von der normalen Niere abgesonderten Harn, als bei dem Harn, den die mit Adrenalin behandelte Niere lieferte. Woraus erklärt sich dieser Unterschied? Offenbar aus der ungeheuren Zunahme der Absonderungsgeschwindigkeit in der rechten Niere nach der zweiten intravenösen Injektion der physiologischen Kochsalzlösung. Eine solche Zunahme erfolgt in der linken Niere nicht, und daraus ergibt sich für die rechte Niere die Erzeugung eines sehr verdünnten Harns.

5. Experiment (28. November 1905).

Erwachsener Hund von 7 kg Gewicht. — Fistel der beiden Harnleiter und Manometer in der linken Carotis.

3 h nachm. Druck des Blutes 160—140 mm Quecksilber.

3 h 5' „ Entnahme einer Blutprobe (I).

## Tabelle VI. (4. Experiment).

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn der rechten Niere | | | Harn der linken Niere (*A*) | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^0 C}$ des Serums | $\Delta$ des Harns | $K_{37^0 C}$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | $\Delta$ des Harns | $K_{37^0 C}$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | |
| I | Normale | 0°,590 | $102 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | |
| II | Intravenöse Injektion von 300 ccm einer (0,9%) physiologischen Kochsalzlösung | 0°,875(?) | $108 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | |
| III | Injektion von 2 ccm Adrenalin (1:30000) in den linken Katheter | 0°,640 | $107 \times 10^{-4}$ | 1°,510 | $181 \times 10^{-4}$ | 0,21 | 1°,025 | $160 \times 10^{-4}$ | 0,09 | |
| IV | Intravenöse Injektion von weiteren 300 ccm der (0,9%) physiologischen Kochsalzlösung | 0°,700 | $111 \times 10^{-4}$ | 0°,700 | $113 \times 10^{-4}$ | 1,01 | 1°,260 | $160 \times 10^{-4}$ | 0,32 | |

3 h 10′ nachm. Injektion von 3 ccm einer Adrenalinlösung (1 : 30000) in den linken Harnleiter.

3 h 15′ „ Der Blutdruck ändert sich nicht. Aus den Katheteren kommen einige Tropfen einer sehr blutigen Flüssigkeit heraus.

3 h 16′ „ Langsame intravenöse Injektion von 500 ccm einer 3 $^0/_{00}$ NaCl-Lösung.

3 h 19′ „ Plötzliche Verminderung des arteriellen Blutdruckes (100 mm). Das Tier erbricht sich.

3 h 25′ „ Der arterielle Druck ist wieder auf 150 mm Hg gestiegen; das Tier ist ruhig. Die intravenöse Injektion von hypotonischer NaCl-Lösung wird fortgesetzt.

3 h 25′ „ Sogleich nach Beendigung der Injektion wird eine Blutprobe (III) entnommen.

3 h 26′ „ Der arterielle Druck beträgt 160 mm.

3 h 27′ „ Neues starkes Sinken des Blutdruckes; das Tier erbricht sich.

3 h 30′ „ Der rechte Katheter wird entfernt, weil nur sehr wenig blutige Flüssigkeit herauskommt. Auch aus dem linken (der mit Adrenalin behandelten Niere) kommt blutige Flüssigkeit heraus.

3 h 16′—3 h 35′ nachm. Entnahme der ersten Harnproben (III).

3 h 35′ nachm. Der arterielle Druck sinkt wieder, und das Tier macht nochmals Versuche sich zu erbrechen.

3 h 38′ „ Druck ca. 140 mm Hg.

3 h 40′ „ Aus dem rechten Katheter kommt kein Harn; es wird ein anderer Katheter eingelegt.

3 h 35′—3 h 55′ nachm. Die Harnproben III, III a und III b werden entnommen.

3 h 55′ nachm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (III).

4 h „ Arterieller Druck zwischen 120 und 130 mm.

4 h 10′ „ Intravenöse Injektion von weiteren 200 ccm einer 3 $^0/_{00}$ NaCl-Lösung. Der Druck steigt wieder auf 160 mm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (IV).

3 h 55′—4 h 10′ nachm. Entnahme der Harnprobe IV.

4 h 45′ nachm. Die Messung des arteriellen Blutdruckes wird eingestellt.

5 h „ Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 8 prozentigen NaCl-Lösung. Während der Injektion nimmt der Abfluß aus dem rechten Katheter beträchtlich zu. —

5 h 2′ „ Entnahme der Blutprobe V.

5 h—5 h 14′ nachm. Entnahme der Harnproben V.

5 h 14′—5 h 22′ nachm. Entnahme der Harnproben Va.

5 h 22′—5 h 29′ nachm. Entnahme der Harnproben Vb.

5 h 30′ nachm. Entnahme der letzten Blutprobe (Vb); das Tier wird getötet.

Obduktion: Nieren von gleichem Volumen; Nierenstein in der rechten Niere.

Einige Stücke der Nieren werden in Flemmingscher und in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert. (Siehe Tabelle VII S. 451.)

Bei diesem Experiment wurde die Injektion der Adrenalinlösung in den Harnleiter gemacht, ehe irgend eine intravenöse Injektion vorgenommen wurde. Darauf folgte keine Änderung des arteriellen Druckes; dies beweist, daß das injizierte Adrenalin nicht in den allgemeinen Kreislauf übergeht. Dann wurde mit der Injektion einer hypotonischen ($3^0/_{00}$) NaCl-Lösung in ungeheuer großer Menge begonnen; 700 ccm bei einem Hunde von 7 kg Gewicht (100 ccm auf jedes Kilogramm Körpergewicht) in zwei Injektionen. Es traten zwei gleich wichtige Wirkungen ein: wiederholtes Erbrechen mit Ausfluß einer in hohem Grade hypotonischen Flüssigkeit ($\Delta = 0°,385$; $K_{37°} = 51 \times 10^{-4}$), jedesmal begleitet von plötzlicher und vorübergehender Erniedrigung des Druckes in den Arterien, als ob der Organismus versucht hätte, sich durch den Magen der in ihn gelangten überschüssigen Flüssigkeit zu entledigen; sodann eine sehr spärliche Harnproduktion, wie sie stets nach Injektion von hypotonischer Lösung in großer Menge zu beobachten ist. Um so bemerkenswerter war dann die enorme Steigerung der Absonderung bei der rechten Niere unmittelbar nach Injektion von nur 100 ccm einer hypertonischen (8 proz.) NaCl-Lösung. Betrachtet man die Zahlen der Tabelle VII und erinnert man sich dabei der verschiedenen Abschnitte des

## Tabelle VII. (5. Experiment.)

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | | Harn der rechten Niere | | | Harn der linken Niere (A) | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^0 C}$ des Serums | Arterieller Druck in mm Hg | $\Delta$ des Harns | $K_{37^0 C}$ des Harns | Absonderungsgeschwindigkeit pro Minute in ccm | $\Delta$ des Harns | $K_{37^0 C}$ des Harns | Absonderungsgeschwindigkeit pro Minute in ccm | |
| I | Normale | 0°,655 | $100 \times 10^{-4}$ | 140—150 | — | — | — | — | — | — | Die plötzlichen Änderungen des Blutdrucks sind begleitet von Versuchen des Tieres, sich zu erbrechen. Die erbrochene Flüssigkeit hat $\Delta = 0^0{,}385$ $K = 51 \times 10^{-5}$ |
| II | Injektion von 3 ccm Adrenalins 1:30000 in den linken Katheter | — | — | 140—150 | — | — | — | — | — | — | |
| III | Intravenöse Injektion von 500 ccm einer 3 ‰ NaCl-Lösung | 0°,600 | $103 \times 10^{-4}$ | 100 | — | — | 0,10 | 0°,755 | — | 0,36 | Wegen ihres spärlichen Volumens erweist es sich als unmöglich, den Gefrierpunkt der Proben III und IIIa des Harns der rechten Niere zu bestimmen. |
| IIIa | 9′ nach dieser Injektion | — | — | 150 | — | — | 0,10 | 0°,855 | — | 0,25 | |
| IIIb | 35′ „ „ „ | 0°,595 | $101 \times 10^{-4}$ | 140 | 0°,980 | $163 \times 10^{-4}$ | 0,66 | 0°,915 | — | 0,40 | |
| IV | Intravenöse Injektion von weiteren 200 ccm der 3‰ NaCl-Lösung | 0°,575 | $102 \times 10^{-4}$ | 160 | 0°,940 | $81 \times 10^{-4}$ | 0,45 | 0°,565 | — | 0,17 | Die Proben III und IIIa des Harns der rechten Niere sowie die Proben III—IIIa, IIIb und IV der linken Niere gestatten nicht die Bestimmung von $K$, da sie blutig sind. |
| V | Intravenöse Injektion von 100 ccm einer 8% NaCl-Lösung | 0,°695 | $127 \times 10^{-4}$ | — | 0°,580 | $110 \times 10^{-4}$ | 1,90 | 0°,565 | $100 \times 10^{-4}$ | 0,64 | |
| Va | 14′ nach dieser Injektion | — | — | — | 0°,500 | $103 \times 10^{-4}$ | 2,35 | 0°,530 | $94 \times 10^{-4}$ | 0,87 | |
| Vb | 30′ „ „ „ | 0°,685 | $121 \times 10^{-4}$ | — | 0°,525 | $102 \times 10^{-4}$ | 2,00 | 0°,540 | $96 \times 10^{-4}$ | 0,70 | |

Experimentes, so muß man wohl zugeben, daß eine beträchtliche Verminderung der molekularen Konzentration des Blutes nicht nur die Nierensekretion nicht erregt, sondern sie sogar herabsetzt, und zuweilen ganz zum Stillstand bringt in der Periode, die unmittelbar auf die plötzliche Verminderung folgt. Dagegen erregt jede Erhöhung der molekularen Konzentration des Blutes die Nierensekretion schnell, sowohl wenn die Erhöhung primär, als auch wenn sie sekundär veranlaßt wird, d. h. nach einer Abnahme der molekularen Konzentration. Und die unmittelbare Wirkung der Erhöhung der molekularen Konzentration des Blutes besteht immer in der Absonderung eines reichlichen aber verdünnten Harns. Selbstverständlich wird jedoch dieser Harn um so weniger konzentriert sein, wenn der Organismus vor Erregung der Nierenfunktion schon eine große Menge von hypotonischer Flüssigkeit aufgenommen hatte. Das war eben bei diesem Experiment der Fall, da wir hier einen im Verhältnis zum Blut ($\Delta = 0°,695$ bis $0°,685$) beträchtlich hypotonischen Harn ($\Delta = 0°,500$) erhielten.

Vergleichen wir nun die Absonderungsgeschwindigkeit der beiden Nieren. Lassen wir die Abschnitte III und IIIa unberücksichtigt, da die rechte Niere keinen Harn lieferte, wahrscheinlich wegen Verstopfung des betreffenden Katheters; dies bewies ja die Tatsache, daß sogleich Harn herauskam, als ein anderer Katheter eingelegt wurde. Bei allen anderen Abschnitten des Experimentes sieht man, daß die Absonderungsgeschwindigkeit stets größer war in der rechten Niere als in der (mit Adrenalin behandelten) linken, auch wenn beide Nieren unter Einwirkung der intravenösen Injektionen von hyptonischer Lösung wenig Harn lieferten. Der Unterschied trat aber deutlich hervor, sobald nach Vornahme der Injektion von hypertonischer Lösung (V. Abschnitt) die Harnabsonderung in hohem Grade beschleunigt wurde. Eine gewisse Beschleunigung im Vergleich zu den vorhergehenden Abschnitten zeigt sich auch in der mit Adrenalin behandelten Niere; sie ist aber gering, verglichen mit der in der rechten Niere eingetretenen. Und mit diesem Unterschied der Absonderungsgeschwindigkeit der beiden Nieren stimmt die Tatsache überein, daß der während der zwei letzten Abschnitte abgesonderte Harn der linken Niere etwas mehr konzentriert ist, als der der rechten Niere, obgleich beide mit dem Blut verglichen hypotonisch sind.

Auf die Werte der elektrischen Leitfähigkeit darf man bei diesem Experiment keinen großen Wert legen, da der beiderseitige Harn, der der einen Niere in höherem, der der anderem in geringerem Grade, blutig war. Dies läßt sich hinsichtlich der rechten Niere teilweise durch das bei der Obduktion konstatierte Vorhandensein eines ziemlich großen Nierensteins im Becken erklären, teilweise durch die Manipulationen der Einführung und des Wechselns der Katheteren; bezüglich der linken Niere kann man es vielleicht mit der durch die Wirkung des Adrenalins hervorgerufenen Störung des Blutkreislaufs in der Niere erklären. Der geringfügige Bluterguß, den die Einführung des Katheters bisweilen verursacht, hat, abgesehen von dem Übelstand, daß er die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit des Harns sehr erschwert, für den Verlauf des Experimentes keine erwähnenswerten weiteren Folgen (ausgenommen, wenn der Bluterguß zu stark ist), weil er nicht im Nierenparenchym, sondern nur in der Mucosa des Harnleiters oder des Beckens erfolgen kann.

6. Experiment (1. Dezember 1905).

Erwachsener Hund von 11 kg Gewicht. — Doppelte Harnleiterfistel.

3 h nachm. Entnahme einer Blutprobe (I) aus der A. femuralis.

3 h 30′ „ Aus dem rechten Katheter fließen einige Tropfen einer blutigen Flüssigkeit; aus dem linken kommt nichts.

3 h 40′ „ Injektion von 3 ccm Adrenalinlösung (1 : 30 000) in den rechten Katheter. Die Flüssigkeit fließt in die Spritze zurück. Aus dem linken Katheter kommt keine Flüssigkeit.

3 h 45′ „ Injektion von 300 ccm einer hypertonischen 4prozentigen NaCl-Lösung in die V. cruralis. Unmittelbar nach der Injektion beginnt aus dem linken Katheter klare, nicht blutige Flüssigkeit zu fließen.

3 h 50′ „ Entnahme einer weiteren Blutprobe (III).

3 h 45′—4 h nachm. Entnahme der Harnproben III.

4 h—4 h 10′ nachm. Die Harnproben IIIa werden entnommen. Da wir überzeugt sind, daß die linke Niere eine

viel größere Menge Flüssigkeit ausscheidet als die rechte, injizieren zu wiederholten Malen in den linken Katheter 5 ccm Adrenalin (1 : 30 000).

4 h—4 h 25′ nachm. Entnahme der Harnproben IV.

4 h 37′—4 h 53′ nachm. Entnahme der Harnproben IVa.

4 h 55′ nachm. Intravenöse Injektion von 50 ccm einer 4prozentigen NaCl-Lösung.

4 h 55′—5 h 15′ nachm. Entnahme der Harnproben V.

5 h 20′ nachm. Entnahme einer weiteren Blutprobe (Va).

Obduktion: Linke Niere stark hyperämisch. Rechte Niere hyperämisch, mit kleinem Coagulum im Nierenbecken. (Siehe Tabelle VIII S. 455.)

Bei diesem Experiment ließen wir das Adrenalin zuerst auf die rechte Niere einwirken, wobei wir die bekannten Resultate erhielten, und dann in einem zweiten Abschnitt auf die linke, nachdem in letzterer die Geschwindigkeit der Absonderung durch intravenöse Injektion einer hypertonischen (4proz.) NaCl-Lösung erhöht worden war. Interessant war die Konstatierung der Tatsache, daß es auf diese Weise gelingt, die Wirkung von der rechten auf die linke zu verschieben. Denn während zuerst die Absonderungsgeschwindigkeit in der linken Niere größer war als in der rechten, wurde die Geschwindigkeit der Harnabsonderung nach Injektion von Adrenalin in den linken Harnleiter größer in der rechten Niere als in der linken. Natürlich war der Unterschied in diesem zweiten Falle nicht sehr groß, da die Wirkung der zuerst in die rechte Niere gemachten Adrenalininjektion nicht ganz verschwunden war, als die Injektion in die linke Niere gemacht wurde. Und parallel mit den Veränderungen der Absonderungsgeschwindigkeit änderten sich auch, wie eine genaue Betrachtung der Tabelle VIII deutlich ergibt, die Werte des osmotischen Druckes für den Harn. Denn während letztere anfangs größer für den von der linken Niere gelieferten Harn gewesen waren, wurden sie zuletzt (Abschnitt IVa und V) größer für den von der rechten Niere abgesonderten Harn. Ähnlich war es bei den Werten der elektrischen Leitfähigkeit; während sie zuerst größer gewesen waren für den Harn der linken Niere, wurden sie zuletzt größer für den der rechten.

**Tabelle VIII. (6. Experiment.)**

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn der rechten Niere (A anfangs) | | | Harn der linken Niere (A nachher) | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{37^\circ C}$ des Serums | $\Delta$ des Harns | $K$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | $\Delta$ des Harns | $K_{37^\circ C}$ des Harns | Geschwindigkeit der Absonderung pro Minute in ccm | |
| I | Normale | $0^\circ,570$ | $102 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | Die nach der Adrenalinisierung entnommenen Harnproben enthalten Spuren von Albumin. |
| II | Adrenalinisation der rechten Niere | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| III | Intravenöse Injektion von 300 ccm einer 4 proz. NaCl-Lösung | $0^\circ,720$ | $134 \times 10^{-4}$ | $0^\circ,860$ | $164 \times 10^{-4}$ | 1,00 | $0^\circ,900$ | $174 \times 10^{-4}$ | 1,40 | |
| III a | 15′ nach der Injektion | — | — | $0^\circ,810$ | $141 \times 10^{-4}$ | 1,10 | $0^\circ,830$ | $170 \times 10^{-4}$ | 1,60 | |
| IV | Adrenalinisierung der linken Niere | — | — | $0^\circ,840$ | $167 \times 10^{-4}$ | 0,28 | $0^\circ,830$ | $168 \times 10^{-4}$ | 0,76 | |
| IV a | 37′ nach dem vorigen Abschnitt | | | $1^\circ,030$ | $195 \times 10^{-4}$ | 0,25 | $0^\circ,860$ | $164 \times 10^{-4}$ | 0,21 | |
| V | Intravenöse Injektion von 50 ccm einer 4 proz. NaCl-Lösung | — | — | $0^\circ,970$ | $168 \times 10^{-4}$ | 0,60 | $0^\circ,870$ | $160 \times 10^{-4}$ | 0,25 | |
| V a | 25′ nach dieser Injektion | $0^\circ,680$ | $128 \times 10^{-4}$ | — | — | — | — | — | — | |

Man beachte wohl, daß der Harn beider Nieren bei diesem Experiment nie eine zu niedrige molekulare Konzentration und eine zu niedrige elektrische Leitfähigkeit zeigen wird, offenbar weil die Geschwindigkeit der Absonderung nie in einer der beiden Nieren groß war; es war ja eine weniger hypertonische Lösung als in den vorhergehenden Fällen injiziert worden.

7. Experiment (18. Januar 1906).

Bastardhund von 22 kg Gewicht. — (Hungert seit ca. 3 Tagen.)

Die linke Niere wird exstirpiert und in den rechten Harnleiter wird ein Katheter eingelegt. Nach Entnahme einer Blutprobe (I) aus der A. femuralis, und nachdem konstatiert wurde, daß die rechte Niere keinen Harn liefert, wird der Versuch gemacht, die Sekretion durch Injektion von 50 ccm einer 8prozentigen NaCl-Lösung in die V. femuralis zu erregen.

3 h 20′ nachm. Da aus dem Kathether kaum einige Tropfen Harn herauskommen, wird die Injektion der 8prozentigen NaCl-Lösung (100 ccm) wiederholt; auf diese Weise stellt sich die Absonderung ein, wenn auch in mäßiger Menge. Nun werden eine Blutprobe (II) und eine Harnprobe (II) entnommen.

3 h 45′ „ In die rechte Niere werden durch den Katheter 3 ccm einer Adrenalinlösung (1:20000) injiziert, und die Nierensekretion kommt bald zum Stillstand.

4 h „ Es werden langsam 150 ccm der 8prozentigen NaCl-Lösung in die V. femuralis injiziert, und so beginnt die Harnabsonderung wieder. Letztere nimmt allmählich zu, jedoch auf eine Weise, die sich nicht mehr mit der vergleichen läßt, die beobachtet wird, wenn die Niere nicht adrenalisiert wurde. (Harnprobe III.)

4 h 15′ „ Die Injektion von Adrenalin wird wiederholt, und die Geschwindigkeit der Absonderung nimmt sofort ab.

4 h 30′ „ Die Harnabsonderung ist wieder gesteigert.

4 h 45′ „ Das Tier wird durch Verblutenlassen getötet.

Bei der Obduktion findet sich fast gar keine Flüssigkeit im Verdauungsrohr. Dagegen ist die Blase mit Harn gefüllt, der als normaler Harn zu betrachten ist, der vor Beginn des Experimentes

abgesondert worden ist; es wird eine Probe davon entnommen. Die (adrenalisierte) Niere erscheint von normaler Größe, und zeigt beim Schnitt eine sehr blasse Marksubstanz; im Nierenbecken bemerkt man ein kleines Blutgerinnsel. Kleine Schnitte der Niere werden behufs histologischer Untersuchung präpariert. (Siehe Tabelle IX.)

Tabelle IX. (7. Experiment.)

| Abschnitte des Experimentes | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{29,5^\circ C}$ des Serums | $\Delta$ | $K_{29,5^\circ C}$ = | |
| I | Normale | — | — | 2°,180 | $211\times10^{-4}$ | Harn der Blase |
| II | Nach einseitiger Nephrektomie | 0°,660 | $140\times10^{-4}$ | — | — | Die in der Gallenblase gefundene Galle hat $\Delta$ = 0°,880 und $K_{29,5^\circ C}$ = $180\times10^{-4}$ |
| III | Nach Injektion einer hypertonischen NaCl-Lösung und Adrenalinisierung der Niere | 0°,760 | $184\times10^{-4}$ | 0°,920 | $196\times10^{-4}$ | |
| IV | do. | — | — | 0°,890 | $185\times10^{-4}$ | |

In diesem Falle exstirpierten wir eine Niere, um die experimentellen Bedingungen zu vereinfachen, und nach Injektion einer hypertonischen (8proz.) NaCl-Lösung ließen wir zweimal hintereinander das Adrenalin auf die übriggebliebene Niere einwirken. Die Absonderungsgeschwindigkeit wurde nicht bestimmt; im Protokoll über das Experiment ist aber deutlich ausgesprochen, daß bei jeder Adrenalininjektion die schon durch intravenöse Injektion einer hypertonischen NaCl-Lösung beschleunigte Harnabsonderung eine kurze Zeit lang stillstand, dann eine Verminderung zeigte, und hierauf von neuem zunahm, ohne jedoch die Geschwindigkeit überhaupt wieder zu erreichen, die gewöhnlich bei einer normalen Niere unter dem Einfluß einer beträchtlichen Erhöhung des osmotischen Druckes des Blutes konstatiert wird.

Die Werte für die molekulare Konzentration und die elektrische Leitfähigkeit des Harns stimmen vollständig mit den bei den vorausgehenden Experimenten erhaltenen überein, d. h. sie sind stets niedriger im Vergleich mit denen des normalen (der Blase entnommenen) Harns.

8. Experiment (26. Januar 1906).

Hund von 7 kg Gewicht. — Doppelte Harnleiterfistel.

3 h 30′ nachm. Nach Entnahme einer Probe von normalem Blut (I) wird eine intravenöse Injektion von 100 ccm einer hypotonischen (4 $^0/_{00}$) NaCl-Lösung gemacht. Aus den Harnleitern kam vor der Injektion kein Harn; nach der Injektion fängt die Harnsekretion an.

3 h 35′ „ Entnahme einer zweiten Blutprobe (II).

4 h „ Injektion von 6 ccm einer Adrenalinlösung (1:20000). Während nach dieser Injektion aus dem linken Harnleiter einige Tropfen Harn auszufließen beginnen, zeigt sich keine Absonderung aus dem rechten Harnleiter. Ungefähr eine Stunde Pause.

4 h 55′ nachm. Wir versuchen die Sekretion zu erregen vermittels einer Injektion von 75 ccm einer hypertonischen (10proz.) NaCl-Lösung in die Gefäße und können in der Tat aus der linken (normalen!) Niere eine Harnprobe (IV) auffangen, während die rechte (adrenalinisierte!) Niere nicht einen einzigen Tropfen liefert.

5 h 10′ „ Intravaskuläre Injektion von 150 ccm destill. Wassers. Der Harn kommt fortwährend in reichlichem Maße aus der linken Niere. Entnahme der Harnprobe (V).

5 h 20′ „ Entziehung von 100 ccm Blut (V) und intravaskuläre Injektion von weiteren 225 ccm destill. Wassers. Entnahme einer Harnprobe (VI).

5 h 35′ „ Nochmalige Entziehung von 100 ccm Blut und nochmalige Injektion von 100 ccm destill. Wassers. Die Nierensekretion (stets auf Seite der linken Niere) nimmt rasch ab, bis sie stille steht.

5 h 40′ „ Entnahme einer letzten Blutprobe (VII); Tötung des Tieres vermittels Durchstechens des Bulbus.

Obduktion: Die Nieren zeigen sich beim Schnitt sehr blaß und anämisch. Im rechten Nierenbecken befindet sich ein kleines Gerinnsel.

**Tabelle X. (8. Experiment).**

| Abschnitte | Experimentelle Bedingungen | Blut | | Harn | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $\Delta$ des Serums | $K_{29,5\,C}$ des Serums | der linken Niere | | der rechten (adrenalinisierten) Niere | |
| | | | | $\Delta$ | $K_{29,5^0\,C}$ | | |
| I | Normale | $0^0,600$ | $=133\times10^{-4}$ | — | — | — | |
| II | Nach Injektion von 100 ccm einer hypoton. (4‰) NaCl-Lösung | $0^0,560$ | $=146\times10^{-4}$ | — | — | — | |
| III | Die rechte Niere wird adrenalinisiert | — | — | — | — | — | Einige Tropfen Harn aus der linken Niere |
| IV | Injektion von 75 ccm einer hyperton. (10%) NaCl-Lösung | — | — | $1^0,400$ | $=255\times10^{-4}$ | — | |
| V | Injektion von 150 ccm Aqua destillata | $0^0,700$ | $=162\times10^{-4}$ | $0^0,980$ | $=170\times10^{-4}$ | — | |
| VI | Nach Blutentziehung und Injektion von weiteren 225 ccm Aqua destillata | — | — | $1^0,005$ | $=221\times10^{-4}$ | — | |
| VII | Injektion von weiteren 100 ccm Aqua destillata | $0^0,690$ | $=135\times10^{-4}$ | — | — | — | Die Sekretion der linken Niere hat aufgehört. Die der rechten Niere ist immer ausgeblieben |

Bei diesem Experiment wurde abgewechselt mit intravenösen Injektionen von hypotonischen und hypertonischem Natriumchloridlösungen, sowie später von destill. Wasser. Mit Adrenalin wurde die rechte Niere behandelt, die nie einen Tropfen Harn lieferte; wir können aber nicht entscheiden, ob diese Tatsache von der Wirkung des Adrenalins abhing oder von der Anwesenheit des Blutgerinnsels, das bei der Obduktion im Nierenbecken gefunden wurde. Was die linke Niere betrifft, so begann sie, wie zu erwarten war, mit ihrer Sekretion erst nach intravenöser Injektion der hypertonischen Lösung, während sie zuvor unter dem Einfluß der früher gemachten Injektionen von hypotonischer Lösung nur wenige Tropfen Harn geliefert hatte. Nachdem aber die hypertonische Injektion gemacht und die Funktion der linken Niere erregt worden war, wurde diese Funktion erst bei der dritten Injektion des destillierten Wassers zum Stillstand gebracht, das (3mal) nacheinander in einer Gesamtmenge von 475 ccm injiziert worden war. Der erhaltene Harn zeigte eine verhältnismäßig niedrige molekulare Konzentration.

9. Experiment (16. Juli 1907).

Hund von 12 kg Gewicht. — Einlegung der Katheteren in die beiden Harnleiter.

3 h 26′ nachm. Wir beginnen normalen Harn aus beiden Nieren zu entnehmen. Der Harn ist klar.

3 h 50′ „ Harn aus der linken Niere 1,9 ccm. Harn aus der rechten Niere 14 ccm. Die beiden Harnproben werden vermischt und daraus bestimmt: $K_{37^\circ} = 286 \times 10^{-4}$, $\Delta = 1^\circ,620$.

3 h 53′ „ Durch den rechten Harnleiter werden 4 ccm des vorher der Blase desselben Tieres entnommenen Harns injiziert, der auf 39° C erwärmt worden war. Nach Entfernung der Spritze kommt der injizierte Harn, der etwas blutig ist, tropfenweise aus dem Katheter wieder heraus. Dies beweist, daß das Blutigwerden des Harns oder der injizierten Flüssigkeit ausschließlich nur eine Folge der durch die Injektion in den Harnleiter ausgeübten mechanischen Wirkung sein kann.

Da weder aus der rechten noch aus der linken Niere Harn kommt, so werden durch die V. cruralis 50 ccm einer gesättigten Lösung von reinem Theocin, das bekanntlich ein kräftiges Diureticum ist, in das Blut des Tieres injiziert.

4 h 5′ nachm. Es kommt ein wenig Harn, aber mehr aus der linken als aus der rechten Niere.

4 h 6′ „ Injektion von weiteren 50 ccm der Theocinlösung.

4 h 18′ „ Der linken Niere entnommener Harn 5,8 ccm. Der rechten Niere entnommener Harn 1,9 ccm. Der Harn der rechten Niere ist noch ein wenig blutig.

Der Harn der linken Niere zeigt: $K_{37^\circ} = 332 \times 10^{-4}$; $\varDelta = 1°,875$. Der der rechten Niere zeigt: $\varDelta = 2°,195$. (Die Bestimmung von $K$ wird nicht ausgeführt, weil der Harn blutig ist.)

4 h 32′ „ Aufgefangener Harn: aus der linken Niere 4,4 ccm, sehr klar; aus der rechten Niere 0,3 ccm, weniger blutig. Rechts wird ein neuer Katheter eingelegt; aber auch so erhalten wir keinen Harn aus der entsprechenden Niere.

5 h 8′ „ Harn der linken Niere: 6 ccm. Es wird bestimmt: $K_{37^\circ} = 412 \times 10^{-4}$; $\varDelta = 2°,490$. Da es auf keine Weise gelingt, Harn aus der rechten Niere zu erhalten, während die linke gut funktioniert, werden durch den linken Harnleiter 2 ccm einer Adrenalinlösung (1 : 30 000) injiziert. Nachdem die injizierte Flüssigkeit zurückgekommen ist, sehen wir, daß die Nierensekretion auch auf der linken Seite aufgehört hat.

5 h 21′ „ Intravenöse Injektion von 50 ccm der Theocinlösung. Das Tier wird unruhig. Aus dem rechten Harnleiter kommt kein Tropfen Harn; aus dem linken kommen kaum einige Tropfen heraus, die aber blutig sind.

Um 6 h 30′ wird das Tier getötet.

Bei der Obduktion zeigen sich die Nieren von gleichem Volumen; die Katheteren tauchen mit ihren Enden in die Nierenbecken. Im rechten Nierenbecken findet sich ein Blutgerinnsel; die Marksubstanz der entsprechenden Niere ist hyperämisch.

Im linken Nierenbecken finden sich keine Blutgerinnsel; die Marksubstanz der Niere ist ischämisch.

## 10. Experiment (19. Juli 1907).

Hund von 8,500 kg Gewicht. — Die Operation wird auf folgende Weise abgeändert:

Statt Katheteren in die Nierenbecken einzuführen, bringen wir zwei Metallkanülen, die wir eigens haben anfertigen lassen, in die Harnleiter. Wir führen sie aber nicht bis in die Nierenbecken hinein, und zwar in der Absicht, jede nur denkbare mechanische Einwirkung auf die Nierensubstanz zu vermeiden.

Vermittels Einführung eines Katheters („à double courant" durch den peripheren Stumpf eines der Harnleiter) entnehmen wir der Blase ein kleines Quantum gemischten Harns, und bestimmen davon:

$$K_{37^0} = 178 \times 10^{-4}.$$
$$\varDelta = 0^{\circ},975.$$

2 h 40′ nachm. Einige Tropfen Harn beginnen aus der rechten Niere herabzukommen.

2 h 50′ „ Intravenöse Injektion von 10 g Harnstoff, der in 30 ccm Wasser gelöst ist.

2 h 58′ „ Harn der rechten Niere: 8,5 ccm.

$$K_{37^0} = 72{,}4 \times 10^{-4}$$
$$\varDelta = 1^{\circ},190.$$

3 h 15′ „ Harn der linken Niere: 7,5 ccm.

$$K_{37^0} = 68{,}7 \times 10^{-4}$$
$$\varDelta = 1^{\circ},210.$$

3 h 20′ „ Injektion in das rechte Nierenbecken (durch die Kanüle) von 2 ccm einer Adrenalinlösung (1:30000). Das Tier ist unruhig.

3 h 25′ „ Harn der rechten Niere: 2,0 ccm.

$$K_{37^0} = 67{,}8 \times 10^{-5}$$
$$\varDelta = 1^{\circ},135.$$

3 h 35′ nachm. Harn der linken Niere: 2,5 ccm.

$K_{37^\circ} = 48,0 \times 10^{-4}$

$\Delta = 1^\circ,265.$

4 h 7′ „ Zweite Injektion von 2 ccm einer Adrenalinlösung (1:30 000) durch die rechte Kanüle.

4 h 8′ „ Harn der rechten Niere: 3,9 ccm.

$K_{37^\circ} = 44,8 \times 10^{-4}$

$\Delta = 1^\circ,220.$

Harn der linken Niere: 4,0 ccm.

$K_{37^\circ} = 35,0 \times 10^{-4}$

$\Delta = 1^\circ,490.$

4 h 32′ „ Wir injizieren, stets in das rechte Nierenbecken, 1 ccm einer Adrenalinlösung (1:1000).

4 h 53′ „ Harn der rechten Niere: 3 ccm.

$K_{37^\circ} = 42,6 \times 10^{-4}$

$\Delta = 1^\circ,315.$

Harn der linken Niere: 3,4 ccm.

$K_{37^\circ} = 34,1 \times 10^{-4}$

$\Delta = 1^\circ,630.$

4 h 55′ „ Die Injektion der konzetrierten Adrennalinlösung wird wiederholt.

5 h 42′ „ Harn der rechten Niere: 5,4 ccm.

$\Delta = 1^\circ,225.$

Harn der linken Niere: 1,4 ccm.

$\Delta = 1^\circ,780.$

Das Tier wird getötet. Die Nieren zeigen sich etwas blaß, aber zuerst normal.

Diese beiden Experimente (das 9. und 10.) beweisen: das erste, daß die rein-mechanische Wirkung des ins Nierenbecken eingeführten Katheters oder der injizierten Flüssigkeit sogar Stillstand der Nierensekretion bewirken kann; das zweite, daß nicht einmal außerordentlich große Dosen von Adrenalin imstande sind, die Nierensekretion ganz zum Stillstand zu bringen, wenn die anderen zur Hervorrufung derselben Wirkung geeigneten Ursachen ausgeschieden sind.

Ferner lehren diese Experimente, daß es stets ratsam ist, die Einführung harter Körper (Katheter, Kanülen usw.) ins Nieren-

becken zu vermeiden, da es, selbst wenn derartige Manipulationen mit der größten Vorsicht ausgeführt werden, schwer hält, Störungen der Nierenfunktion zu vermeiden, die, wie es scheint, meistens Veränderungen des Kreislaufs im Organ zuzuschreiben sind. Viel weniger schädlich ist es von diesem Gesichtspunkte aus, wenn der Katheter oder eine beliebige Kanüle im Harnleiter so befestigt wird, daß das obere Ende der beiden wenigstens 4—5 ccm vom Nierenbecken entfernt bleibt.

## III. Schlußfolgerungen.

### *A. Speicheldrüsen.*

Aus den hier vorgetragenen Experimenten ergibt sich konstant, daß bei den auf die erwähnte Weise der ausschließlich lokalen Einwirkung des Adrenalins ausgesetzten Submaxillardrüsen eine wiederholte starke Reizung der Chorda tympani keine Speichelabsonderung mehr bewirkt, wie bei normalen Drüsen: die Speichelabsonderung ist ganz aufgehoben. Erst einige Stunden nachher, wenn vielleicht die Wirkung des Adrenalins schwächer zu werden beginnt, gelingt es durch starke und wiederholte Reizungen der Chorda, einige Tropfen eines sehr zähflüssigen Speichels zu erhalten, der dem durch Reizung des Sympathicus erhaltenen ähnlich ist.

Die makroskopische Untersuchung der mit Adrenalin behandelten Submaxillardrüsen ergab stets, daß sie sehr blaß waren, d. h. in höchstem Grade anämisch: dies beweist, daß das Adrenalin seine zusammenziehende Wirkung auf die Blutgefäße ausgeübt hatte.

Was das Volumen der Drüsen betrifft, so wurde nur bei dem 4. Experiment ein genauer Vergleich zwischen der mit Adrenalin behandelten Drüse und der anderen angestellt, die, obwohl nicht mit Adrenalin behandelt, dennoch ebenfalls gereizt wurde. In diesem Falle wurde bei der adrenalinisierten Drüse ein größeres Volumen angetroffen als bei der anderen, und die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß ihre Zellen angeschwollen und voll von Granula waren, während die Zellen der symmetrischen Drüse, deren sekretorischer Nerv ebenfalls gereizt worden war und die sezerniert hatte, aber nicht der Wirkung des Adrenalins ausgesetzt gewesen war, ziemlich klein waren und das bekannte Aus-

sehen derjenigen Drüsen darboten, welche nur mäßig funktioniert haben.

Beim 3. Experiment, bei dem die beiden Drüsen adrenalinisiert und auch ihre Nerven gereizt worden waren, bemerkte man keinen Unterschied im Volumen der beiden Organe, und das Volumen schien nicht von dem normaler Drüsen verschieden zu sein.

Dennoch sind wir der Ansicht, daß dem Ergebnis des 4. Experimentes ein größerer Wert beigelegt werden muß, da hier der Vergleich zwischen den beiden Drüsen ein sicheres Urteil gestattete.

Wie läßt sich aber dieses Ergebnis erklären? Man könnte annehmen, in der adrenalinisierten Drüse habe die Reizung der sekretorischen Nervenfasern dieselben Wirkungen, wie sie in der normalen Drüse auf Reizungen hin erfolgen, soweit dies die chemischen Veränderungen betrifft, die in den sezernierenden Zellen vor sich gehen und die eigentliche Sekretion bilden. Es würde jedoch die wichtigste sekretorische Wirkung fehlen, nämlich die Ausstoßung der Absonderungsstoffe, die sich in den Drüsenzellen sowohl vorher als während der Reizung der sekretorischen Nervenfasern gebildet haben; die Ausstoßung des Sekrets würde vielleicht gerade infolge des mangelhaften Zuströmens des Blutes nicht erfolgen, das sich aus der durch das Adrenalin bewirkten Zusammenziehung der Blutgefäße erklären würde. Sollte diese Erklärung richtig sein, so würden diese Experimente beweisen, daß für das Zustandekommen des Gesamtvorganges der Sekretion der Kreislauf des Blutes nicht weniger wichtig ist als die Tätigkeit der Drüsenzellen.

Um aber dies alles behaupten zu können, müßte man die Gewißheit haben, daß das Adrenalin keine Wirkung auf das Protoplasma der absondernden Zellen ausübt.

Ehe wir jedoch diese Frage erörtern, wollen wir die bei den Untersuchungen über die Nieren erhaltenen Resultate resümieren.

### *B. Niere.*

Wenn wir die einzelnen Ergebnisse beiseite lassen, die der Leser am Ende des über ein jedes Experiment geführten Protokolls nachsehen kann, so können wir die Gesamtergebnisse unserer

Untersuchungen über die Nieren auf folgende Weise zusammenfassen.

In der Mehrzahl der Fälle nimmt die Geschwindigkeit der Absonderung des Harns ab in der Niere, bei der eine Injektion von Adrenalin in den Harnleiter vorgenommen wurde, während der Harn selbst, obschon er in geringerer Menge abgesondert worden ist, eine niedrigere molekulare Konzentration und eine geringere elektrische Leitfähigkeit zeigt als der von der nicht adrenalinisierten Niere abgesonderte Harn.

Wenn wir jedoch das Resultat des 10. Experimentes, während dessen eine außergewöhnlich große Menge Adrenalin injiziert wurde, ins Auge fassen, sowie die Tatsache, daß bei unseren Experimenten nie ein vollständiges ausschließlich dem Adrenalin zuzuschreibendes Aufhören der Harnabsonderung, ein dem Aufhören der Speichelabsonderung ähnliches Aufhören der Funktion des Organs, bewirkt wurde, so glauben wir daraus schließen zu müssen, daß mindestens die Wirkung des Adrenalins auf die Nierengefäße viel weniger deutlich hervortritt, als die Wirkung, welche dieselbe Substanz auf die Blutgefäße der Submaxillardrüse und anderer Gewebe hervorbringt. Die hier angedeuteten Gefäße können nur die Capillaren sein, weil die injizierte Substanz vor allem in die Capillaren eindringt, wenn sie durch das Epithel der Ausführungsgänge oder der Acini und Tubuli der Drüsen hindurch resorbiert wird. In der Tat berechtigt nichts zu der Annahme, daß das in den Whartonschen Gang oder in das Nierenbecken injizierte Adrenalin mit den Wanderungen der kleinen Arterien der beiden Drüsenorgane in Berührung treten könne; wenigstens beobachteten wir in einem Falle kein Anzeichen davon, daß die Substanz in den allgemeinen Kreislauf übergegangen sei.

---

Was nun die Wirkung des Adrenalins auf die Blutcapillaren betrifft, so faßt Elliot[1]) den gegenwärtigen Stand unserer diesbezüglichen Kenntnisse folgendermaßen zusammen: „With regard to the capillaries I have not been able to arrive at a definite opinion. Steinach and Kahn[2]) claim that the capillaries of the frog's

[1]) T. R. Elliot, The action of adrenalin. Journ. of Physiol. **32**. 5—6, 401, 1905.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **97**, 105, 1903.

nictitating membrane are truly contractile and react to excitation of the sympathetic nerves. Oliver[1]) tested the frog's mesenteric vessels with suprarenal extract, but did not distinguish between the contraction of the capillaries and that of the larger tubes. I have watched the vessels of the nictitating membrane by Drash's method, as well as those of the mesentery and web. In no capillary could I detect any contraction by adrenalin, and even the arteries showed but little change. Such obliteration of the lumen as occurs in the mammal was never seen. Perhaps the failure was due in part to the fact that the frogs, though freshly caught, were weak in the spring time. Yet it is more probable that extreme vaso-constriction is used but rarely, if ever, by the frog: and therefore the question with regard to the capillaries must be determined by experiments on the mammal.

Exner[2]) has proved that the intraperitoneal injection of adrenalin (0,5 mg for a rabbit) delays the absorption of poisons introduced into the stomach or the peritoneal cavity.

.... The fact is supported by an experiment of the Metzers[3]), which shows that the absorption of fluorescin from subcutaneous tissues and its elimination by the kidneys are lessened after a previous dose of adrenalin. By the latter workers, this is attributed to constriction of orifices between the endothelial cells of the capillaries."

Wie man sieht, sind die Kenntnisse sehr spärlich, die wir hinsichtlich der Wirkung des Adrenalins auf die Blutcapillaren besitzen. Unsere Untersuchungen würden jedoch den Nachweis führen, daß es eine stark zusammenziehende Wirkung auf die der Submaxillardrüse ausübt; dagegen ist es uns nicht gestattet, eine analoge Schlußfolgerung zu ziehen aus unseren Experimenten über die Nierencapillaren, namentlich über das Capillarnetz der Tubuli.

Wie schon erwähnt, fanden wir bisweilen bei der Obduktion die Nierensubstanz beim Durchschneiden etwas blaß, aber die Blässe, d. h. die Ischämie, erreichte niemals den Grad, der stets in den Submaxillardrüsen konstatiert wird. Zu anderen Malen fanden wir dagegen die Nierensubstanz beim Durchschneiden etwas rötlich, hyperämisch; diese Hyperämie könnte erklärt werden

---

1) Journ. of Physiol. **21**, 22, 1897.

2) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **50**, 313, 1903.

3) Amer. Journ. of Med. Science **79**, 98, 1905.

als Hyperämie infolge von Blutstauung, die in gewisser Hinsicht der gleicht, die man in demselben Organ nach schneller Unterbindung der A. renalis beobachtet.

---

Nun müssen wir eine andere Frage erörtern. Könnten die von uns nach Injektionen von Adrenalinlösungen in die Submaxillardrüsen und in die Nieren beobachteten Folgen nicht einer toxischen Wirkung zugeschrieben werden, die das Adrenalin unabhängig von seiner Wirkung auf die Blutcapillaren auf die Drüsenzellen ausgeübt hätte?

Was die toxische Wirkung des Adrenalins auf die Gewebe betrifft, so hat schon P. Foà[1]) nachgewiesen, daß die lokalisierte Injektion von Nebennierenextrakt lokale Nekrose, z. B. in der Leber, verursacht, und daß intravenöse Injektionen dieses Extraktes nekrobiotische Infarkte in den Nieren hervorrufen. In der Folge wies Noël Paton[2]) und dann Drummond[3]) nach, daß subkutane Injektionen von Adrenalin nicht nur Glykosurie, sondern auch häufig entzündliche Veränderungen in Nieren und Leber verursachen. Derartige Veränderungen, namentlich solche, welche die Niere betreffen, beschreibt Drummond folgendermaßen: „Very marked changes were present in the kidneys, which varied from congestion of the organ with cloudy swelling of the epithelial cells to a parenchymatous nephritis with desquamation of cells in the tubules. The changes in very acute cases, where the animal died after a single dose or after a couple of doses, differed a little from those seen in cases where the doses had been repeated over a prolonged period. In acute cases, in addition to congestion of the vessels throughout the organ, the convolute tubules are seen to have suffered severely. In some the cells lining the tubules are in a condition of cloudy swelling, but in many there is a dropsical swelling of the cells, the central parts of the cell (i. e. the parts next the lumen of the tubule) being so swollen as practically to obliterate the lumen. These central portions of the cells do not stain, so that only their outlines are

[1]) P. Foà, Arch. per le scienze med. **24**, 22; Arch. ital. de Biol. **35**, 250, 1901.

[2]) Noël Paton, On the nature of adrenalin glycosuria. Journ. of Physiol. **29**, 3, 286, 1903.

[3]) W. B. Drummond, The histological changes produced by the injection of adrenalin chloride. Journ. of Physiol. **31**, 2, 81, 1904.

visible. The peripheral portion of the cells is granular, stains readily, and contains the nucleus. Here and there a tubule can be found in which the cells are desquamating."

Leider, während der Autor Bilder von den Veränderungen der Leber und der Lungen vorführt, reproduziert er nicht diejenigen, welche auf die Veränderungen in den Nieren Bezug haben.

Wie dem auch sein mag, wenn subcutane Injektionen von Adrenalin solche Wirkungen hervorbringen, so können wir es nicht absolut ausschließen, daß das Aufhören der Speichelabsonderung und die bei der Nierensekretion beobachteten Veränderungen wenigstens zum Teil durch die direkte Einwirkung des Adrenalins auf die Drüsenzellen zu erklären sind. In der Tat erinnert das Aufhören der Speichelabsonderung durch sein plötzliches Eintreten an dasjenige, welches man nach Einwirkung des Atropins beobachtet; in diesem Falle bewirkt jedoch Reizung der Chorda tympani, wie unter normalen Verhältnissen, die bekannte Gefäßerweiterung. Aber die mikroskopische Untersuchung der Submaxillardrüsen ergab in unseren Fällen keine Veränderungen der Zellen ähnlich denjenigen, welche Drummond in den Nieren usw. beobachtet hat; diese Veränderungen von degenerativem Charakter brauchen übrigens immer eine gewisse Zeit, ehe sie zutage treten. Und da ja das Adrenalin, wie es den Anschein hat, auf die parenchymatösen Zellelemente der Organe keine plötzlichen toxischen Wirkungen ähnlich denjenigen ausübt, welche z. B. die Alkaloide (Atropin usw.) oder andere Gifte ausüben, so scheint es uns wahrscheinlicher zu sein, daß das von uns bei unseren Experimenten beobachtete Aufhören der Speichelabsonderung hauptsächlich der plötzlichen durch das Adrenalin verursachten Anämie der Drüse zuzuschreiben ist.

Was die Nieren betrifft, so ist es noch weniger wahrscheinlich, daß die von uns beobachteten Veränderungen ihrer Sekretion ausschließlich durch direkte toxische Wirkung des Adrenalins auf die Zellen der Nierenkanälchen zu erklären sind. Einerseits ist ja aus vielen Experimenten bekannt, daß die gewöhnlichen Drüsengifte (Atropin, Pilocarpin usw.), wenig auf die Nieren einwirken; andererseits waren die von uns beobachteten Veränderungen niemals so bedeutend, daß sie uns zur Annahme einer Degeneration des Epithels der Kanälchen veranlaßt hätten.

Deshalb neigen wir eher zu der Annahme, daß das Adrenalin auf die Nierencapillaren eine zusammenziehende Wirkung nicht in demselben Grade ausübt, wie es sie auf andere Capillarnetze ausübt. Diese Annahme kann übrigens nicht wundernehmen, da ja bekanntlich die Wirkung des Adrenalins nicht bei allen kontraktilen Plasmen eine identische ist, wie sich aus den übereinstimmenden Untersuchungen zahlreicher Forscher ergibt.

So würden also die Nieren nicht nur hinsichtlich ihrer secernierenden Funktion, sondern auch hinsichtlich der Art des Verhaltens ihrer Blutcapillaren sich von den anderen Drüsenorganen unterscheiden.

# Untersuchungen über den Gehalt vegetabilischer Stoffe an Stickstoff, Phosphor und Schwefel in organischer Bindung.

Von

**A. Stutzer.**

(Mitteilung aus dem Agrikultur-chemischen Institute der Universität Königsberg.)

(*Eingegangen am 15. November 1907.*)

Unsere Kenntnisse über die Eigenschaften und die Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Bestandteile der Pflanzen haben im Laufe der letzten Jahrzehnte eine wesentliche Erweiterung erfahren. Teils suchte man die Art und die chemische Konstitution der nicht zur Gruppe der Eiweißstoffe gehörigen Bestandteile festzustellen und hat E. Schulze in dieser Hinsicht insbesondere fördernd gewirkt. Andererseits wurden von Emil Fischer und dessen Mitarbeitern sehr wertvolle Arbeiten über diejenigen Verbindungen geliefert, durch die man schließlich eine Aufklärung über die Zusammensetzung der Eiweißstoffe erhalten wird.

Die Pflanzen enthalten noch andere stickstoffhaltige Bestandteile. In früherer Zeit war man der Ansicht, daß der Grad der Verdaulichkeit der Eiweißstoffe, oder allgemeiner ausgedrückt der Proteinstoffe, teils von individuellen Eigenschaften des einzelnen Tieres oder der Tierart (Wiederkäuer, Nicht-Wiederkäuer, Omnivore) abhängt, teils durch physikalische Eigenschaften des Proteinstoffs oder der diese umhüllenden Zellmembran abhängig ist.

Es gelang mir, im Jahre 1880 den Nachweis zu liefern, daß solche Einflüsse nicht allein den Grad der verschiedenen Verdaulichkeit der vegetabilischen Proteinstoffe bedingen, sondern

daß ein anderer Umstand von noch größerer Wichtigkeit sich bemerkbar macht. Ich sprach mich damals dahin aus, daß die Proteinstoffe irgend einer bestimmten vegetabilischen Substanz nicht (wie man bis dahin annahm) in chemischem Sinne einheitliche Substanzen seien, sondern daß sie aus zwei chemisch und physiologisch verschiedenartigen Gruppen von Stoffen zusammengesetzt wären. Ich gab chemisch-analytische Methoden an, um einerseits die stickstoffhaltigen Bestandteile, welche nicht zur großen Gruppe des „Proteins“ gehören, von letzteren zu trennen und das Protein in einen verdaulichen und in einen absolut unverdaulichen Anteil zu zerlegen. Beide Methoden sind während der beiden letzten Jahrzehnte allgemein im Gebrauch gewesen, um eine schnelle Wertschätzung der stickstoffhaltigen Bestandteile von Nahrungs- und Futtermitteln auszuführen.

Die in den Verdauungsflüssigkeiten nicht löslichen stickstoffhaltigen Bestandteile gehören vermutlich zu den echten Nucleinen. Diese sind nicht schwefelhaltig. Da die Verdauungsrückstände neben N und P auch stets S in organischer Bindung enthalten, worüber ich bereits im Jahre 1882 durch meinen damaligen Assistenten W. Klinkenberg Untersuchungen ausführen ließ (siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**, 566) liegt die Annahme nahe, daß neben den Nucleinen noch andere Verbindungen von unbekannter Zusammensetzung darin vorkommen.

Durch gewisse Untersuchungen von E. Schulze sah ich mich veranlaßt, die alten Untersuchungen über das gegenseitige Verhältnis von N, P, S in vegetabilischen Stoffen und in unverdaut gebliebenen Substanzen wieder aufzunehmen, zumal unsere Kenntnisse über das Vorkommen organischer Phosphorverbindungen, die gleichzeitig stickstoffhaltig sind, durch verschiedene Forscher wesentlich erweitert sind. Auch über den Übergang des P unorganischer Phosphate in organische P-Verbindungen (und umgekehrt) liegen eine Anzahl von Beobachtungen vor. Bezüglich der bei der Keimung stattfindenden Umwandlung organischer P-Verbindungen in unorganische Phosphate sei auf die Untersuchungen von G. Tammann[1]), Schimper[2]), Iwanoff[3]),

---

[1]) G. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**, 416.

[2]) Schimper, Flora 1890.

[3]) Iwanoff (russische Mitteilung) zit. in Czapek, Biochemie der Pflanzen **2**, 180.

Zaleski[1]) hingewiesen, ferner auf diejenigen von E. Schulze und N. Castoro[2]).

Von G. Tammann wird darauf aufmerksam gemacht, daß die in den Samen vorhandenen organischen Schwefelverbindungen bei der Keimung in Sulfate umgewandelt werden[3]), aber im allgemeinen wissen wir hierüber noch recht wenig.

Bezüglich der organischen P-Verbindungen sei bemerkt, daß E. Schulze und Castoro die Untersuchungsmethode von Zaleski und Iwanoff und auch diejenige von E. B. Bart und W. H. Andrews mit Recht bemängeln. Die von diesen benutzte Salepters äure konnte möglicherweise einen Teil der organischen P-Verbindungen oxydiert haben. E. Schulze und N. Castoro gingen in der Weise vor, daß sie eine abgewogene Menge der gepulverten Samen (bzw. von getrockneten Keimpflanzen) bei Zimmertemperatur mit einer 1 prozentigen Salzsäure behandelten. Die unorganischen Phosphate werden gelöst. Das Filtrat wurde mit Calciumchlorid und Ammoniak versetzt, Calciumphosphat und Magnesium-Ammoniumphosphat scheidet sich aus. Das Unlösliche wird abfiltriert, der Rückstand mit Ammoncitratlösung übergossen, um Calciumphosphat in Lösung zu bringen. Die Flüssigkeit wurde filtriert und im Filtrat die Phosphorsäure durch Magnesiamischung gefällt. Das Verfahren schließt einen Fehler ein, auf den E. Schulze auch aufmerksam macht, es wird nach den ersten Übergießen mit Ammoncitratlösung die an Magnesia gebundene Phosphorsäure unbeachtet gelassen.

E. Schulze und Castoro fanden nur in den Samen von Pinus Strobus eine sehr geringe Menge von Phosphorsäure in unorganischer Bindung. Alle anderen untersuchten Samen waren hiervon frei. Ein ganz anderes Ergebnis erhielten sie bei etiolierten Keimpflanzen, in diesen waren unorganische Phosphorsäureverbindungen zweifellos nachzuweisen.

Von gepaarten organischen P-Verbindungen kennen wir bisher nicht viele. Bekannt ist die Glycerin-Phosphorsäure, die einen Bestandteil des Lecithins ausmacht und durch die Löslichkeit in Äther gekennzeichnet ist. Schon vor längerer Zeit war von Pfeffer auf das Vorkommen gepaarter Phosphorsäuren in

---

[1]) Zaleski, D. bot. Ges. Ber. 24, 330, 1906.

[2]) E. Schulze und N. Castoro, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 477.

[3]) G. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 416.

den Pflanzen hingewiesen[1]). E. Schulze und Winterstein fanden in den Samen von Sinapis nigra und in anderen Samen eine Phosphorsäure in organischer Bindung, welche bei der Behandlung mit Salzsäure Inosit liefert[2]) und vermutlich mit dem von Posternak gefundenen „Phytin“ oder der Anhydro-Oxymethylen-Diphosphorsäure gleichbedeutend ist[3]).

Die letztere scheint nach den Untersuchungen der amerikanischen Forscher A. Patten und E. B. Bart[4]) beispielsweise in der Weizenkleie in relativ reichlicher Menge an Mg, Ca, K gebunden vorzukommen. Bezüglich der von ihnen angewendeten Untersuchungs- und Trennungsmethode der unorganischen und organischen P-Verbindungen ist allerdings zu erwähnen, daß sie noch immer die von E. Schulze für nicht einwandsfrei bezeichnete amerikanische Methode anwenden. Ich verweise auch auf die Untersuchungen von A. D. Emmet und H. S. Griendley über die organischen P-Verbindungen des Fleisches[5]).

Es sei noch auf eine Dissertation von G. Hiestand hingewiesen, aus der hervorgeht, daß die in absolutem Äther löslichen organischen P-Verbindungen bei der Spaltung mit Säuren Kohlehydrate liefern. Phosphatide, die aus Weizen und aus den Blättern der Roßkastanie gewonnen waren, gaben neben Pentosen auch Glucose und Galaktose[6]). Es dürfte sich in diesen Fällen ebenfalls um gepaarte organische Phosphorsäureverbindungen handeln, von ähnlicher Konstitution wie die Glycerinphosphorsäure oder Phytin.

Eine zweite Gruppe von P-haltigen Verbindungen umfaßt die Nucleoalbumine, zu denen insbesondere das Phytovitellin gehört. Diese liefern keine Xanthinbasen und wird anscheinend bei der Behandlung mit stärkeren Säuren die Phosphorsäure daraus als Metaphosphorsäure (?) abgespalten. Diese Verbindungen sind, wenn sie aus tierischen Stoffen hergestellt werden, besser bekannt, als die entsprechenden Stoffe pflanzlichen Ursprungs. Die

---

[1]) Jahrb. f. wissensch. Botanik E. 1872.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**, 90 u. Landw. Vers.-Stat. **55**, 278. Ferner Berl. chem. Ber. **30**, 2299, 1897.

[3]) Compt. rend. **137**, 1903.

[4]) Patten und Hart, Amer. Chem. Journ. **31**, 564, 1904.

[5]) Journ. Amer. Chem. Soc. **28**, 25, 1906.

[6]) Dissertation, Zürich 1906.

Nucleoalbumine sind in sauren Magensaft löslich, die zu einer andern Gruppe von P-haltigen Verbindungen, zu den Nucleoproteiden gehörigen Verbindungen dagegen nicht. Demgemäß werden die organischen P-Verbindungen, welche in den Pflanzen vorkommen, in verschiedene Gruppen sich einteilen lassen, dadurch gekennzeichnet, daß sie gegen sauren Magensaft, Wasser (bzw. schwach angesäuertes Wasser) Äther u. dgl. sich verschieden verhalten.

Wir haben eine Anzahl von Untersuchungen über den Gehalt von Pflanzenstoffen an P und S in organischer Bindung ausgeführt und teilen über die Methoden der Untersuchung folgendes mit:

## 1. Methoden der Untersuchung.

### a) Lecithin - Phosphorsäure.

Die Lecithinbestimmungen wurden von uns nach dem üblichen Verfahren ausgeführt. Die Pflanzenstoffe sind in den gebräuchlichen Extraktionsapparaten zunächst einige Stunden lang mit Alkohol und dann mit Äther ausgezogen. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde der fettige Rückstand in dem Kolben mit rauchender Salpetersäure erwärmt, die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, filtriert und die Phosphorsäure nach der Molybdänmethode bestimmt.

### b) Phosphor in unorganischer Bindung.

Je 20 g der fein gemahlenen Substanz werden in einem Becherglase mit 20 ccm Alkohol durchfeuchtet, eine Mischung von 20 ccm einer Salzsäure (10% HCl enthaltend) und 160 ccm Wasser hinzugesetzt und unter häufigen Umrühren 3—4 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Flüssigkeit, welche 1% HCl enthält, wird durch ein Faltenfilter gegossen und 100 ccm des Filtrates (enthaltend die löslichen Bestandteile von 10 g Substanz) mit einer Lösung von Calciumchlorid und Ammoniak versetzt. Der Niederschlag (Tricalciumphosphat, Dicalciumphosphat, Magnesiumammoniumphosphat) wird mit wenig ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, in verdünnter Salpetersäure gelöst und die Phosphorsäure durch Molybdän gefällt.

Wir überzeugten uns, daß durch die Flüssigkeit, welche 1% HCl enthält, bei Zimmertemperatur Lecithin nicht gelöst wird und ist aus den Untersuchungen von E. Schulze und N. Castoro zu entnehmen, daß auch andere organische P-Verbindungen hierdurch nicht gelöst werden. Solange als eine bessere Trennungsmethode der unorganischen und organischen P-Verbindungen in Pflanzenstoffen nicht bekannt ist, dürfte das vorstehend angegebene Verfahren als ausreichend betrachtet werden können. Wenn in weiteren Teilen der Arbeit angegeben ist: „Phosphor in unorganischer Bindung bzw. Phosphor in organischer Bindung", so war bei den Untersuchungen stets in der Weise verfahren, daß zunächst die Gesamtmenge an P ermittelt ist. Dann ist in vorstehend beschriebener Weise die Menge des P in unorganischer Bindung bestimmt und ergibt die Differenz den Gehalt an P in organischen Substanzen.

E. Schulze fällt nicht mit Molybdän, sondern behandelt die durch Calciumchlorid und Ammoniak erhaltene Fällung mit Ammoncitrat, wodurch die an Magnesia gebundene Phosphorsäure der Bestimmung sich entzieht. Bei den nachstehend angegebenen Analysen ist teils unser Verfahren benutzt (a), teils dasjenige von E. Schulze und N. Castoro (b).

| | Gerstenstroh | Roggenkörner | Palmkernkuchen | Kartoffelknollen | Senfpflanzen | Torf | Bierhefe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gesamtmenge an P (ermittelt durch Oxydationsschmelze) . . . . | 0,21 | 0,33 | 0,63% | 0,12 | 0,75 | 0,26 | 1,36% |
| P nach Verfahren a . | 0,119 | 0,032 | 0,073 | 0,12 | 0,33 | 0,0002 | 0,45 |
| P nach Verfahren b . | 0,091 | 0,003 | 0,0 | 0,10 | 0,31 | 0,0 | 0,36 |

Die Differenz zwischen den Zahlen nach a und b dürfte wohl dem P in Form von Magnesiumammoniumphosphat zuzuschreiben sein. Wir haben bisher keinen Grund zu der Annahme, daß gepaarte organische Phosphorsäureverbindungen durch die 1prozentige Salzsäure gelöst und durch die nachfolgende Einwirkung von Ammoniak wieder ausgefällt werden, und somit hierdurch ein Teil der Differenz veranlaßt sein könnte. An P in Form von

Magnesiumphosphat würden demnach bei den ersten drei Substanzen vorhanden gewesen sein:

0,028 0,029 0,073%

Bezüglich der analytischen Ergebnisse sei mitgeteilt, daß die Zahlen auf lufttrockne Substanz sich beziehen und nicht auf absolute Trockensubstanz. Sofern die Stoffe an und für sich nicht so trocken waren, daß sie gemahlen werden konnten, sind sie bei einer nur wenig unter 100° liegenden Temperatur getrocknet, gemahlen und blieben sie dann an der Luft so lange liegen, bis sie einen gleichbleibenden Feuchtigkeitsgehalt hatten.

In gleicher Weise wurde bei den Untersuchungsproben verfahren, die im Abschnitt 2 und 3 erwähnt sind, da es namentlich nur darauf ankam, die relativen Verhältnisse zum Ausdruck zu bringen.

### c) Schwefel in unorganischer Bindung.

Wie unter b angegeben, wurden die Pflanzenstoffe mit einer Flüssigkeit, die 1% HCl enthielt, ohne sie zu erwärmen ausgezogen und im Filtrate durch Bariumchlorid die Schwefelsäure gefällt. Ob man vollauf berechtigt ist, den auf diese Weise gefundenen Gehalt an Schwefel als in „unorganischer Bindung" vorhanden zu bezeichnen, lasse ich dahingestellt. Mir ist keine in Pflanzen vorkommende organische Schwefelverbindung bekannt, welche bei Gegenwart von Salzsäure durch $BaCl_2$ gefällt wird, und sei es daher gestattet, bis auf weiteres die erhaltene Ausscheidung als nur von Sulfaten herrührend zu betrachten.

Der Gehalt an Schwefel in „organischen" Substanzen würde demnach sich aus der Differenz ergeben, welche man erhält, wenn man die Menge des S in unorganischer Bindung von derjenigen des Gesamt-S in Abzug bringt.

### d) Die Oxydationsschmelze.

Um die Gesamtschmelze an P und S in vegetabilischen Stoffen zu ermitteln, muß man eine Oxydationsschmelze ausführen. Handelt es sich darum, eine größere Menge organischer Substanz zu zerstören, so ist dies eine lästige Sache, da beim Verpuffen mit Kaliumnitrat oder Kaliumchlorid im Gemenge mit Natriumcarbonat leicht Verluste eintreten. Wir bedienen uns mit Vorteil des basischen Calciumnitrates, welches nach dem Ver-

fahren von Birkeland-Eyde fabrikmäßig hergestellt wird. Das Verfahren beschrieb ich in der „Zeitschrift für angewandte Chemie“ Jahrg. 1907, S. 1637, wie folgt:

„5 g der gemahlenen vegetabilischen Substanz werden in einem größern Tiegel mit 35 g Calciumnitrat gemengt und weitere 15 g des Calciumnitrates als Decke obenauf geschüttet. Man erhitzt zunächst mit einem gewöhnlichen Bunsenbrenner, dann steigert man die Hitze unter Anwendung eines Teclubrenners. Die Masse wird einige Male mit einem Platinspatel umgerührt. Wenn die Entwicklung von braunen Dämpfen beginnt, entfernt man die Flamme und läßt erkalten. Ein lebhaftes Verpuffen oder Verspritzen findet nicht statt, trotzdem man die ganze Masse auf einmal erhitzt, da die bei der Oxydation der organischen Substanz sich entwickelnde Kohlensäure von dem basischen Kalksalpeter sofort als $CaCO_3$ gebunden wird. Man läßt die Schmelze erkalten und übergießt sie mit Wasser.“

Es sei noch bemerkt, daß wir die Oxydationsschmelzen in eisernen Tiegeln vornehmen, da Tiegel von Platin oder von Porzellan zu stark angegriffen werden. Die Schmelze wird zwar durch Eisenoxyd in geringer Menge verunreinigt, dies ist aber für die P- und S-Bestimmungen gleichgültig. Die Mischung der organischen Substanz mit den Kalksalpeter schmilzt unter 100°, so daß eine innige Verteilung der Bestandteile möglich ist, bevor die Oxydation beginnt.

Die Schmelze wird in der üblichen Weise untersucht. Will man in einer Schmelze sowohl P wie auch S bestimmen, so kann man in der Weise verfahren, daß man die geschmolzene Masse in Salzsäure löst, mit Ammoniak neutral und dann durch Essigsäure sauer macht. Hatte man eiserne Tiegel verwendet, so ist der gesamte P als Eisenphosphat ausgeschieden, oder man setzt, um sicher zu gehen, vor der Zugabe von Ammoniak einige Tropfen von Eisenchloridlösung hinzu. In der Ausscheidung wird die Menge der Phosphorsäure (nach dem Molybdänverfahren im Filtrat die Schwefelsäure bestimmt.

## 2. Vergleichende Untersuchungen über die Bestimmung des P in vegetabilischen Stoffen mit Anwendung der Oxydationsschmelze.

Seit langer Zeit ist bekannt, daß beim Veraschen vegetabilischer Stoffe die Verbindungen von Schwefel, Chlor, Kalium usw.

zum Teil in Verlust geraten und ist es (beispielsweise bei der Ermittlung von Rauchschäden) üblich, die Pflanzenstoffe vor dem Veraschen mit einer Lösung von Natriumcarbonat zu durchfeuchten, wenn man den Gehalt an Gesamtschwefel bestimmen will. (Siehe auch Haselhoff und Lindau, Beschädigung der Vegetation durch Rauch, S. 385, Berlin 1903). Die P-Verbindungen vegetabilischer Stoffe hält man für weniger leicht veränderungsfähig, indem man die irrtümliche Meinung hatte, daß diese fast ganz als unorganische Phosphate und nur zum geringen Teil in organischer Bindung zugegen wären. Die nachstehend angegebenen analytischen Ergebnisse zeigen, daß man beim vorsichtigen Veraschen vegetabilischer Stoffe im Muffelofen bisweilen erheblich niedrigere Zahlen für den Gehalt an Gesamt-P erhält, als wenn man die Oxydationsschmelze nach der vorstehend angegebenen Weise ausführt. Das Veraschen im Muffelofen geschah in üblicher Weise, die Asche ist in Salpetersäure gelöst und der Gehalt an P nach dem Molybdänverfahren bestimmt. Zur Untersuchung gelangten drei Sorten von Haferkörnern und eine Probe Baumwollsaatmehl. Die Haferkörner Nr. 1 waren eine Handelsware, Nr. 2 und 3 Ernteprodukte aus unserer Vegetationsstation.

| | Gehalt an Gesamt-P | |
|---|---|---|
| | Im Muffelofen verascht % | Oxydationsschmelze angewendet % |
| Haferkörner Nr. I . . . . | 0,393 | 0,394 |
| „ „ II . . . . | 0,328 | 0,426 |
| „ „ III . . . . | 0,195 | 0,253 |
| Baumwollsaatmehl . . . . . | 0,650 | 1,132 |

Bei den nachstehend angegebenen Untersuchungen wurde stets die unter 1d beschriebene Oxydationsschmelze als das bessere Verfahren angewendet.

### 3. Allgemein orientierende Untersuchungen verschiedener vegetabilischer Stoffe auf den Gehalt an Phosphor und Schwefel in organischer und in unorganischer Bindung.

Durch einige Untersuchungen sollten zunächst die Angaben von E. Schulze und seiner Mitarbeiter, dahingehend, daß die Pflanzen (insbesondere die Samen) erhebliche Mengen von P in

organischer Bindung enthalten nochmals geprüft werden. Bei mehreren Substanzen ist gleichzeitig der Gehalt an Schwefel in organischer und in unorganischer Bindung ermittelt. (Einige der nachstehend mitgeteilten Zahlen sind bereits vorhin angegeben.)

| | Gesamte Phosphormenge % | Davon | | Von 100 Teilen P sind in | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | organisch | unorganisch | organischer Bindung | unorgan. Bindung |
| Roggenkörner . | 0,330 | 0,298 | 0,032 | 90,3 | 9,7 |
| Haferkörner . . | 0,391 | 0,338 | 0,053 | 86,4 | 13,6 |
| Kokosnußkuchen | 0,545 | 0,379 | 0,166 | 69,5 | 30,5 |
| Baumwollsaatmehl. . . . | 1,151 | 1,078 | 0,073 | 93,6 | 6,4 |
| Palmkernkuchen | 0,630 | 0,557 | 0,073 | 88,4 | 11,6 |
| Kartoffelknollen | 0,120 | — | 0,120 | — | 100,0 |
| Weißer Senf, grüne Pflanze (Probe vor der Blüte genommen). . . . | 0,750 | 0,420 | 0,330 | 56,0 | 44,0 |
| Torf (Torfstreu) | 0,260 | 0,260 | — | 100,0 | — |
| Hefe (Bierhefe) | 1,360 | 0,450 | 0,910 | 33,0 | 67,0 |

| | Gesamte Schwefelmenge % | Davon | | Von 100 Teilen S sind in | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | organisch | unorganisch | organischer Bindung | unorgan. Bindung |
| Haferkörner . . | 0,217 | 0,216 | 0,001 | 100,0 | — |
| Kokosnußkuchen | 0,370 | 0,328 | 0,042 | 88,6 | 11,4 |
| Baumwollsaatmehl. . . . | 0,449 | 0,402 | 0,047 | 89,5 | 10,5 |

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß insbesondere die Samen und die aus Samen hergestellten Produkte einen hohen Gehalt an P (bzw. auch an S) in organischer Bindung haben, im Vergleich zum P und S in unorganischer Bindung. Roggen, Hafer, Kartoffeln, Senf, Hefe waren zuvor getrocknet und gemahlen. Die anderen Gegenstände wurden im nicht getrockneten Zustande untersucht.

### 4. Untersuchungen von Futtermitteln und Fütterungsversuche.

Im Frühjahr 1906 hatten wir Hammel für Fütterungsversuche aufgestellt, dieselben erhielten Wiesenheu als Futter und wurde die Untersuchung des Wiesenheues etwas weiter, als sonst üblich, ausgedehnt, indem darin auch der Gehalt an Gesamt-S und P ermittelt wurde, und zwar:

a) deren gesamte Menge im unveränderten, aber bei 100° getrocknetem Heu,

b) den Gehalt an P und S in unorganischer Bindung,

c) den Gehalt an P und S nach vorheriger Behandlung mit saurem Magensaft.

Die angegebenen Zahlen beziehen sich auf Trockensubstanz. Die Menge des Gesamtphosphors und Schwefel geschah wie unter 1d angegeben. P und S in unorganischer Bindung sind nach 1b und 1c untersucht. Zur Bestimmung der in saurem Magensaft unlöslichen Verbindungen wurde eine 2 g Trockensubstanz entsprechende Menge der vegetabilischen Substanz mit 250 ccm eines Auszuges aus Magenschleimhäuten von Schweinen der 0,2% HCl enthielt, 12 Stunden lang auf 37° erwärmt, dann nachts über erkalten gelassen und am folgenden Morgen ist das Unlösliche abfiltriert. Die Bereitung der Auszüge aus Magenschleimhäuten geschah in der im „Journal für Landwirtschaft" **54**, 266, 1906, beschriebenen Weise, die von der in der „Zeitschr. f. physiol. Chem." 9, 208 angegebenen Methode dadurch sich unterscheidet, daß die Menge der Flüssigkeit halb so groß wie dort angegeben bemessen wurde und demgemäß der Gehalt an Pepsin doppelt so groß war, als nach dem alten Verfahren. Als Konservierungsmittel ist Chloroform gebraucht.

Der in saurem Magensaft unlösliche Anteil der vegetabilischen Substanz wurde getrocknet und durch Oxydationsschmelze zerstört.

Das Wiesenheu Nr. 1 enthielt:

| | Phosphor | Schwefel | Stickstoff |
|---|---|---|---|
| gesamte Menge . . . . . . . | 0,195% | 0,259% | 1,880% |
| in unorganischer Bindung . . | 0,092 | 0,043 | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,103 | 0,216 | 1,880 |
| unlöslich in Magensaft . . . . | 0,190 | 0,248 | 0,820 |

Betrachten wir die für P angegebenen Zahlen, so finden wir, daß die ganze Menge des Phosphors in saurem Magensaft unlös-

lich blieb, trotzdem 0,092% P in Form unorganischer Verbindungen zugegen war. Nahezu dieselben Verhältnisse finden wir beim Schwefel, während vom Stickstoff erhebliche Mengen gelöst wurden. Es scheint also der unverdauliche Anteil der Proteinstoffe relativ reicher an P und an S zu sein, als der Verdauliche. Aber es ist nicht nur der in organischen Stoffen vorhandene P und S unlöslich geblieben, sondern es hat durch die Einwirkung des sauren Magensaftes auch eine geringere Lösung der unorganischen Phosphate stattgefunden. Die Säure des Magensaftes genügte nicht, um in Wasser nicht lösliche Phosphate löslich zu machen und ist dies darauf zurückzuführen, daß ein Teil der Salzsäure von den Eiweißstoffen bei der Verdauung gebunden wird, indem HCl an Aminogruppen sich anlagert und muß dann die Wirkung der Säure auf Phosphate vermindert sein.

Schon vor langer Zeit hatte ich meinen damaligen Assistenten W. Klinkenberg veranlaßt, in verschiedenen vegetabilischen Stoffen das Verhältnis von N, P, S nach der Behandlung mit saurem Magensaft festzustellen. (Siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. 1882, 6, 164 und 566). In den verschiedenen Untersuchungsobjekten waren übereinstimmende relative Verhältnisse zwischen den drei genannten Elementarbestandteilen nicht zu erzielen gewesen. Ich hatte ein Verfahren der künstlichen Verdauung benutzen lassen, welches von dem jetzigen dadurch sich unterschied, daß eine größere Menge von HCl in Anwendung gekommen war. Bei den jetzigen Versuchen habe ich den Säuregehalt nicht höher gewählt, als er unter den natürlichen Bedingungen im Magen der Tiere zu sein pflegt und wollte ich feststellen, ob für N, P, und S Zahlen erhalten werden, welche in einem annähernd gleichen relativen Verhältnis zueinander stehen.

Würde dies der Fall sein, so ließe sich daraus schließen, daß die unverdauliche stickstoffhaltige Substanz der verschiedenen Futtermittel eine annähernd gleiche Zusammensetzung hat.

Die nachstehend angegebenen Untersuchungen geben hierüber Auskunft.

Nr. 2 ist ein Wiesenheu, das zu Fütterungsversuchen diente, und wurde eine größere Probe so lange an der Sonne getrocknet, bis das Heu sich mahlen ließ.

Nr. 3 ist das gleiche Heu, aber bei 50° getrocknet.

Nr. 4 unterschied sich von Nr. 3 dadurch, daß die Trocknung bei 75° vorgenommen ist und

Nr. 5 ist bei 100° getrocknet. Die Dauer des Trocknens betrug bei Nr. 3 = 9 Stunden, bei Nr. 4 und 5 = 6 Stunden.

Nr. 6 ist Hafer, vor dem Mahlen wurde die zur Untersuchung dienende Probe bei 100° getrocknet. Die nachstehenden Angaben beziehen sich auf Trockensubstanz.

| Wiesenheu Nr. 2 | Phosphor | Schwefel | Stickstoff |
|---|---|---|---|
| Gesamte Menge . . . . . . | 0,210% | 0,371% | 1,61% |
| in unorganischer Bindung . . | 0,118 | 0,066 | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,092 | 0,305 | 1,61 |
| unlöslich in Magensaft . . . | 0,164 | 0,316 | 0,64 |
| **Wiesenheu Nr. 3** | | | |
| Gesamte Menge . . . . . . | 0,226 | 0,365 | 1,59 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,148 | — | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,078 | — | — |
| unlöslich in Magensaft . . . | 0,163 | 0,300 | 0,58 |
| **Wiesenheu Nr. 4** | | | |
| Gesamte Menge . . . . . . | 0,205% | 0,290% | 1,60% |
| in unorganischer Bindung . . | 0,124 | — | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,081 | — | — |
| unlöslich in Magensaft . . . | 0,170 | 0,293 | 0,57 |
| **Wiesenheu Nr. 5** | | | |
| Gesamte Menge . . . . . . | 0,199 | 0,310 | 1,53 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,118 | — | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,081 | — | — |
| in Magensaft unlöslich . . . | 0,172 | 0,302 | 0,71 |
| **Haferkörner Nr 6** | | | |
| Gesamte Menge . . . . . . | 0,415 | 0,230 | 1,74 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,057 | 0,001 | — |
| in organischer Bindung . . . | 0,358 | 0,229 | 1,74 |
| in Magensaft unlöslich . . . | 0,203 | 0,262 | 0,21 |

Beim Wiesenheu sehen wir, daß vom P in saurem Magensaft mit 0,2% HCl weniger löslich ist, als durch Einwirkung von Salzsäure mit 1% HCl in Lösung gebracht werden konnte. Durch das Erhitzen auf 50, 75 und 100° wurde die Menge des P in organischer

Bindung nicht verändert, indem die Unterschiede bei Heu Nr. 2 bis 5 nur 0,02% P betragen.

Irgendwelche gleichbleibende Verhältnisse in der Menge von Stickstoff, Phosphor und Schwefel in der durch sauren Magensaft unlöslichen Substanz bestehen nicht. Setzt man die Menge des Stickstoffs = 100, so war vorhanden an

| | Phosphor | Schwefel |
|---|---|---|
| im Heu Nr. 1 . . . | 23 | 30 |
| „ „ „ 2 . . . | 25 | 49 |
| „ „ „ 3 . . . | 28 | 51 |
| „ „ „ 4 . . . | 29 | 51 |
| „ Hafer . . . . . | 96 | 125 |

Im Anschluß an die Versuche mit künstlichem Magensaft sind Fütterungsversuche mit einem Hammel gemacht. Nach einer längeren Verfütterung, während welcher Zeit das Tier täglich 800 g des unter 2 bezeichneten Wiesenheus erhalten hatte, begann die eigentliche Versuchsperiode mit denselben Heu. 800 g des lufttrocknen Heus entsprachen 661,92 g Trockensubstanz. Die Tagesrationen für die ganze Dauer des Versuches sind auf einmal abgewogen. An elf aufeinander folgenden Tagen ist der Kot im Kotbeutel gesammelt. Die Menge des Kotes war durchschnittlich in 24 Stunden 740 g mit 383,39 g Trockensubstanz.

| | Phosphor | Schwefel |
|---|---|---|
| Täglich im Heu verzehrt . . . . . . . | 1,390 g | 2,455 g |
| Täglich im Kot ausgeschieden . . . . | 1,690 g | 1,173 g |
| Im Kot sind mehr ausgeschieden . . . | 0,300 g | — |
| Im Kot sind weniger ausgeschieden . . | — | 1,282 g |

Berücksichtigt man nur den P in organischer Substanz, so ergaben die Zahlen folgendes:

| | Phosphor |
|---|---|
| Täglich im Heu verzehrt . . . . . . | 0,609 g |
| Täglich im Kot ausgeschieden . . . . | 0,793 g |

In einer zweiten Versuchsreihe erhielt dasselbe Schaf täglich 250 g Hafer und 500 g des gleichen Wiesenheus, wie vorhin. Die Futterration enthielt an Trockensubstanz

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| in Form von Heu . | 413,7 g | mit | 0,868 g P | und | 1,505 g S |
| in Form von Hafer. | 219,9 g | „ | 0,913 g P | „ | 0,505 g S |
| | | | 1,781 g P | | 2,039 g S |

In einer 11 tägigen Periode wurden im Kot durchschnittlich in 24 Stunden 535 g Kot ausgeschieden mit 303,69 g Trockensubstanz.

Die Trockensubstanz enthielt 1,940 g P und 0,959 g S.

Berücksichtigen wir wieder, wie vorhin, nur die Menge des P in organischer Substanz, so sind die Verhältnisse folgende:

| | |
|---|---|
| Täglich im Heu und Hafer verzehrt . . . . . | 1,167 g P |
| Täglich im Kot ausgeschieden . . . . . . . . | 0,783 g P |

In beiden Versuchsreihen wurde im Kot an P (Gesamtmenge) mehr ausgeschieden, als das Tier verzehrt hatte. Derartige Beobachtungen, die selbstverständlich nur für eine gewisse Zeit zutreffen, sind früher wiederholt beobachtet. Es sei in dieser Hinsicht auf ältere Angaben von E. Wolf verwiesen, mitgeteilt in dem Buche „Die Ernährung der landw. Nutztiere", gekrönte Preisschrift, 85. Berlin 1876.

---

Weitere Untersuchungen bezogen sich auf die Behandlung des Kotes mit saurem Magensaft. Eine ungefähr 2 g Trockensubstanz entsprechende Menge des Kotes wurde mit 250 ccm künstlichen Magensaftes (aus der Schleimhaut von Schweinemagen bereitet und 0,2% HCl enthaltend) übergossen und 12 Stunden lang auf 37° erwärmt, dann die Flüssigkeit über Nacht erkalten gelassen, abfiltriert und im Rückstande der Gehalt an N, P, S bestimmt. Außerdem ist die Gesamtmenge dieser Stoffe und der in einer Salzsäure von 1% HCl lösliche Anteil nach den vorhin angegebenen Methoden ermittelt.

Kot I ist der bei den vorhin erwähnten ersten Fütterungsversuchen erhaltene, bei denen nur Heu als Futter gegeben wurde. Kot II, III und IV stammen von der Mischung des Heues mit Hafer her. (2. Fütterungsperiode.) Der Kot III wurde an der Luft bei 15—20° und Kot Nr. IV bei 100° getrocknet. Es lag die Absicht vor, den etwaigen Einfluß des Trocknens von Kot bei verschiedenen Temperaturen zu verfolgen. Die Ergebnisse waren die nachstehenden. Die Trockensubstanz enthielt

| Kot I | Phosphor | Schwefel | Stickstoff |
|---|---|---|---|
| gesamte Menge . . . . . . . | 0,441% | 0,306% | 1,57% |
| in unorganischer Bindung . . | 0,234 | 0,008 | |
| in organischer Bindung . . . | 0,207 | 0,298 | 1,57 |
| in saurem Magensaft unlöslich | 0,307 | 0,217 | 1,08 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Kot II** | | | |
| gesamte Menge . . . . . . . | 0,639 | 0,316 | 1,66 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,381 | 0,010 | |
| in organischer Bindung . . . | 0,258 | 0,306 | 1,66 |
| in saurem Magensaft unlöslich | 0,307 | 0,238 | 1,08 |
| **Kot III** | | | |
| gesamte Menge . . . . . . . | 0,654 | 0,254 | 1,59 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,475 | | |
| in organischer Bindung . . . | 0,179 | | |
| in saurem Magensaft unlöslich | 0,312 | 0,246 | 1,03 |
| **Kot IV** | | | |
| gesamte Menge . . . . . . . | 0,644 | 0,261 | 1,57 |
| in unorganischer Bindung . . | 0,329 | | |
| in organischer Bindung . . . | 0,315 | | |
| in Magensaft unlöslich . . . . | 0,302 | 0,248 | 1,16 |

In den ersten vier Kotproben ist das gegenseitige Verhältnis von N : P : S annähernd das gleiche, im Durchschnitt 100 : 282 : 217 und somit wesentlich von den Verhältniszahlen verschieden, die vorhin bei der Untersuchung des Futters gefunden wurden.

Machen wir, wie vorhin, bei den Futterstoffen, einen Vergleich zwischen der Menge des in saurem Magesnaft nicht löslichen Stickstoffs, Phosphor und Schwefels, indem wir den Befund an Stickstoff gleich 100 setzen, so kommen wir zu folgenden Zahlen:

| | Phosphor | Schwefel |
|---|---|---|
| im Kot I . . . | 284 | 200 |
| „ „ II . . . | 284 | 220 |
| „ „ III . . . | 302 | 238 |
| „ „ IV . . . | 260 | 231 |

Das relative Verhältnis dieser drei Elementarbestandteile ist im Futter und im Kot ein wesentlich verschiedenes.

## Schlußfolgerungen.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen geht folgendes hervor:

1. Die im Abschnitt 1 angegebene Methode zur Ermittlung des Gehaltes vegetabilischer Stoffe an P und S in organischer Bindung hat sich bewährt.

2. Die Beobachtungen von E. Schulze und dessen Mitarbeitern über das Vorwalten organischer P-Verbindungen (im Vergleich zu unorganischen) in den Pflanzen, besonders in den Samen wurden bestätigt und erweitert.

3. Der Schwefel kommt ebenfalls vorwiegend in organischer Bindung in den Pflanzen vor, soweit aus den bisherigen Untersuchungen zu erkennen ist.

4. Die in saurem Magensaft unlöslichen Anteile von vegetabilischen Stoffen enthalten (in Übereinstimmung mit älteren Beobachtungen) N, P und S in organischer Bindung, aber es konnte bei der Untersuchung verschiedener vegetabilischer Stoffe ein gleichbleibendes relatives Verhältnis zwischen diesen drei Elementarbestandteilen nicht gefunden werden. Auch bestand kein gleichbleibendes relatives Verhältnis zwischen nur zwei von diesen Elementarbestandteilen (N und P bzw. S und P oder S und N).

5. Fütterungsversuche mit Schafen ergaben, daß der Kot eine größere Menge von P und S in organischer Bindung enthält, als nach der Beschaffenheit des Futters zu erwarten war. Dem Kote werden Stoffwechselprodukte beigemengt, die unlösliche P- und S-Verbindungen enthalten. Diese unlöslichen Verbindungen sind auch in saurem Magensaft nicht löslich.

Über die Natur der organischen S-Verbindungen, und zwar sowohl derjenigen, welche in den Pflanzen enthalten und in saurem Magensaft nicht löslich sind, wie auch über die unlöslich bleibenden S-Verbindungen des Kotes wissen wir bisher nichts Näheres.

Zum Schluß nehme ich Anlaß, meinen Assistenten Dr. Reich, Merres und Seidler für die wertvolle Beihilfe bei der Ausführung der Analysen meinen Dank auszusprechen.

---

# Die Adsorptionsaffinitäten des Hefe-Invertins.

Von

**Leonor Michaelis.**

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban zu Berlin.)

*(Eingegangen am 27. November 1907.)*

Unter denjenigen Eigenschaften der Körper, welche ihre Adsorptionseigenschaften bestimmen, sind die elektrischen Ladungen der Oberflächen von besonderer Wichtigkeit. Sie bewirken, daß im allgemeinen elektropositive Körper von elektronegativen Oberflächen und umgekehrt adsorbiert werden. Amphotere Substanzen, wie die Eiweißkörper des Serums, verhalten sich nach den Bedingungen verschieden. Während das Serumeiweiß in neutraler Lösung von ausreichenden Mengen des elektropositiven Eisenoxyds leicht quantitativ adsorbiert wird, läßt es sich durch die negativ geladenen Substanzen Mastix und Kaolin erst nach Ansäuerung und dadurch bewirkter Umladung völlig erschöpfen[1]).

Es schien mir nun von Interesse, die Ladung der Fermente auf diese Weise zu ermitteln. Bei früherer Gelegenheit[2]) wurde schon festgestellt, daß das Labferment durch Mastix vollkommen adsorbiert wird. Ebenso wird es aber auch durch Eisenoxyd adsorbiert, so daß man dem Lab aus seinen Adsorptionseigenschaften eine eindeutige elektrische Ladung nicht zusprechen kann. Nun werden bekanntlich die Fermente so leicht von allen möglichen Oberflächen adsorbiert, daß man an der Verläßlichkeit dieser Schlußfolgerung zweifeln kann, wenn es nicht gelingt, an irgend einem Ferment eine eindeutige Ladung nachzuweisen. Als ein solches Ferment fand ich das Invertin aus der Hefe.

Die Fermentlösung wurde hergestellt, indem Hefe mit etwas Seesand zerrieben und einige Stunden mit Chloroformwasser ge-

---

1) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **2**, 219; **5**, 365.

2) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **4**, 11.

schüttelt wurde. Die Wirksamkeit des Invertins wurde in grobqualitativer Weise durch die Umwandlung von Saccharose in reduzierenden Invertzucker, und in ihrem zeitlichen Verlauf genauer auf die übliche Weise im Polarimeter bestimmt. Die Fermentlösung wurde dann verschiedenen Adsorbentien, teils kolloidalen Lösungen, welche entweder durch die Fermentlösung selbst oder durch nachträglichen Zusatz von Elektrolyten koaguliert wurden, teils Hydrogelen oder feinpulvrigen Substanzen ausgesetzt, und die abfiltrierte oder abzentrifugierte Fermentlösung mit einer entsprechend verdünnten Originalfermentlösung in ihrer Wirkung auf die gleiche Rohrzuckerlösung verglichen.

Von elektronegativen Substanzen wurden geprüft: Kaolin, Mastix, Arsensulfid.

### 1. Kaolin.

Die Versuche wurden teils bei der natürlichen, meist spurweise sauren Reaktion des Hefeextraktes, teils nach eben deutlicher Ansäuerung mit Essigsäure vorgenommen. Auf je 10 ccm Flüssigkeit wurden 2—3 g Kaolin zugegeben, umgeschüttelt und zentrifugiert oder filtriert.

#### 1. Versuch.

| Saccharoselösung + gewöhnliches Ferment | | Saccharose + Kaolinferment | |
|---|---|---|---|
| Zeit (in Minuten) | Drehung | Zeit | Drehung |
| 0 | 6,00° | 0 | 6,00° |
| 45 | 4,75° | 45 | 4,75° |
| 90 | 3,00° | 90 | 3,00° |
| 121 | 1,97° | 121 | 1,97° |

Der Verlauf der Inversion ist völlig gleich.

#### 2. Versuch.

| Saccharose + gewöhnliches Ferment | | | Saccharose + Kaolinferment | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Zeit | Drehung | Inversion pro Minute Zeit | Zeit | Drehung | Inversion pro Minute Zeit |
| 0 | 5,70° | 0 | 0 | 5,66° | 0 |
| 51 | 4,90° | 0,016° | 58 | 4,94° | 0,013° |
| 89 | 4,33° | 0,015° | 98 | 4,25° | 0,014° |
| 156 | 3,50° | 0,014° | 151 | 3,46° | 0,014° |
| | | Mittel: 0,015° | | | Mittel: 0,014° |

Die Inversionsgeschwindigkeiten sind nahezu gleich.

Durch die Behandlung des Ferments mit Kaolin ist also kein Ferment verloren gegangen. Gleichzeitig ist aber der (übrigens geringfügige) Eiweißgehalt der Fermentlösung entfernt und die Lösung erheblich geklärt worden. Kaolin ist also ein vorzügliches Mittel zur Reinigung und Klärung des Invertins.

### 2. Mastix.

Invertinlösung erzeugt mit Mastixsuspension keine Flockung. Es wird deshalb etwas $MgSO_4$ hinzugefügt, von dem Niederschlag abfiltriert und das Filtrat grob-qualitativ auf Invertin geprüft: das Ferment ist in erkennbarer Weise nicht vermindert.

### 3. Arsensulfid.

Arsentrioxyd wird mit $H_2S$ behandelt und der überschüssige $H_2S$ durch Kochen entfernt. Diese Lösung gibt mit Invertin keinen Niederschlag. Es wird zu einer Mischung von 4 Teilen Arsensulfid und 1 Teil Fermentlösung $MgSO_4$ zugegeben und von dem ausgefallenen Arsensulfid abfiltriert.

| Saccharose + gewöhnliches Ferment Anfangsdrehung: 6,47° | | | Saccharose + Arsen-behandeltes Ferment Anfangsdrehung: 6,37° | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Zeit | Inversion | Inversion pro Minute | Zeit | Inversion | Inversion pro Minute |
| 0 | 0 | | 0 | 0 | |
| 82 | 0,22° | 0,0027° | 138 | 0,30° | 0,0022° |
| 167 | 0,47° | 0,0028° | 180 | 0,40° | 0,0022° |
| 229 | 0,68° | 0,0030° | 238 | 0,55° | 0,0023° |
| (1200 | 3,82°) | | (1200 | 3,16°) | |
| | | Mittel: 0,0028° | | | Mittel: 0,0022° |

Das Inversionsvermögen des behandelten Fermentes ist also nur um wenig vermindert, und dies beruht entweder auf einer geringfügigen Adsorption oder auf einer geringfügigen Schädigung der Fermentwirkung. Man kann also sagen, daß das Ferment von Arsensulfid nicht oder kaum adsorbiert wird, obwohl in diesem Versuch alle Bedingungen einer maximalen Adsorption, große Mengen Adsorbens und minimale Mengen Ferment, gegeben sind.

Von elektropositiven Substanzen wurden untersucht Eisenoxyd in Form der kolloidalen Lösung und Tonerde als Hydrogel.

### 1. Kolloidales Eisenhydroxyd.

Die Fermentlösung gibt mit der Eisenlösung ohne weiteres eine Fällung. Wendet man kleine Mengen Eisenlösung an, so enthält das Filtrat das Ferment in merklich verminderter Menge, bei einigermaßen größeren Mengen von Eisen ist das Filtrat absolut frei von Ferment.

Zuckerlösung + gewöhnliches Ferment

| | |
|---|---|
| Anfangsdrehung: | 8,63° |
| Drehung nach 67 Minuten | 5,83° |

Zuckerlösung + vorbehandeltes Ferment

| | |
|---|---|
| Anfangsdrehung | 8,75° |
| Drehung nach 67 Minuten | 8,75° |

### 2. Tonerde.

Aus Aluminiumchlorid durch Ammoniak frisch gefällte Tonerde wird mit Wasser und Zentrifuge ammoniakfrei gewaschen. Der Niederschlag wird mit wirksamer Fermentlösung versetzt, abzentrifugiert und erweist sich als absolut fermentfrei.

Damit ist also das Invertin als ein entschieden elektronegatives Kolloid charakterisiert.

Im Anschluß daran war die Gelegenheit gegeben, noch zwei Fragen von allgemeinerem Interesse zu beantworten:

1. Ist das Ferment im Zustand der Adsorptionsverbindung noch wirksam? Die Adsorptionsverbindung des Invertins mit Eisenhydroxyd wurde mit Wasser geschüttelt, ohne daß sich ein sicherer Übergang des Ferments in das Wasser nachweisen ließ. Wenn aber der Niederschlag selbst mit Saccharoselösung versetzt wurde, so enthielt die nach einigen Minuten abzentrifugierte Flüssigkeit reichlich Invertzucker. Das gleiche ließ sich mit der Tonerdeverbindung des Fermentes nachweisen. Das Ferment braucht also nicht in Lösung zu sein, um seine Wirkung zu entfalten, sondern hat auch in adsorbiertem Zustand seine Wirksamkeit. Das legt die Möglichkeit besonders nahe, daß das Ferment auch in seiner scheinbaren wässerigen Lösung nicht in wirklich gelöstem Zustande, sondern als mikroheterogene Phase im Sinne Bredigs enthalten sein kann.

2. **Kann man die Adsorptionseigenschaften des Ferments zur Trennung desselben von eiweißartigen Beimengungen benutzen?** Es wurde schon gesagt, daß bei der Kaolinbehandlung eine Trennung des Ferments von dem natürlich anhaftenden Eiweiß stattfindet. Aber immerhin ist die Eiweißmenge des Hefeextraktes gering, und es fragt sich, ob diese Trennungsmethode nicht ihre Grenzen hat. Es wurden deshalb 15 ccm einer sehr schwach wirksamen Fermentlösung mit 1 ccm Pferdeserum versetzt, ganz leicht mit Essigsäure angesäuert und mit 3 g Kaolin durchgeschüttelt. Das Filtrat war absolut eiweißfrei und klar, enthielt aber das Invertin in ungeschwächtem Maße.

# Chemische Untersuchungen über die Ätiologie der Eklampsie.[1])

Von

**B. J. Dryfuss.**

(Aus dem Department of Chemistry, Cornell University Medical College, New York.)

*(Eingegangen am 4. Oktober 1907.)*



## Teil I.

### a) Die Autolyse der Placenta.

Zwischen Harveys Zeit, welcher der Placenta eine verdauende Wirkung zuschrieb, derart, daß sie ihr vom Blute zugeführte Nährstoffe umsetzen und sie fähig machen sollte, den Foetus zu ernähren, und der modernen Forschung, auf der die Physiologie dieses Organs aufgebaut worden ist, liegt eine beträchtliche Lücke,

---

[1]) Herrn Prof. J. Clifton Edgar danke ich dafür, daß er mir das Material des Manhattan Maternity und Emergency Hospitals zur Verfügung stellte, ebenso den House Surgeons desselben Instituts für die freundliche Unterstützung. Herrn Prof. James Ewing danke ich für seine Hilfe beim pathologischen Teil der Untersuchung. Zu besonderem Danke bin ich Herrn Dr. C. G. L. Wolf für seine Unterstützung während der ganzen Zeit der Untersuchung und bei der Abfassung der Arbeit verpflichtet.

innerhalb deren die mit seiner Wirkung zusammenhängenden chemischen Vorgänge wenig beachtet wurden.

Die Untersuchung von Beziehungen zwischen der Schwangerschaft und der chemischen Beschaffenheit der Geschlechtsorgane geht auf Fischel zurück, der im Jahre 1884 das Vorhandensein eines Eiweißstoffes, den er als Pepton ansah, im Harn vieler Gebärenden beobachtete. Diese Art von Substanz trat gewöhnlich am dritten Tage nach der Niederkunft auf.

Die Beobachtung führte ihn dazu, das Uterusgewebe zu untersuchen, und mit einer Modifikation der Hofmeisterschen Methode fand er, daß in der Uterusmuskel Albumose nachgewiesen werden konnte, daß aber das Endometrium diese Substanzen selten enthält.

Im Anschluß an die Arbeit von Salkowski über die Autolyse und denen von Jacoby stellt Mathes 1901 eine Untersuchung über die Autolyse des Placentagewebes an. Den durch Autolyse der Placenta gebildeten Extrakt prüfte er unter Anwendung von Devotos Methode auf Vorhandensein von Albumosen. Verschiedentlich wurden im vollständig frischen Material Albumosen gefunden.

Die Zeit der Autolyse schien dabei eine wichtige Rolle für die Art der entstehenden Produkte zu spielen. Man fand z. B., daß beim Stehen die Menge der Albumose abnahm, und daß bei einer fünf Monate dauernden Autolyse große Mengen von Leucin und Tyrosin im Autolysat enthalten waren. Mathes folgerte daraus, daß der Vorgang eine Art tryptischer Verdauung wäre, die zuletzt auf die Bildung von Aminosäuren hinausliefe.

Ascolis Experimente bestätigten bis zu gewissem Grade die Resultate des vorhergenannten Forschers. Er konnte die Bedingungen feststellen, unter denen die Autolyse am besten vor sich ging. Er fand, daß das Ferment inaktiv bei alkalischer, schwach wirksam bei neutraler und stark wirksam bei saurer Reaktion war.

Dies stimmt, wie man sieht, nicht genau mit den Resultaten von Mathes überein. Merletti war imstande, Ascolis Beobachtungen insofern zu bestätigen, als er die Wirksamkeit des Ferments bei saurer Reaktion nachwies. Bei Anwendung der Kühneschen Methode erhielt er beträchtliche Mengen Proteosen und auch eine Fällung, die er als Antipepton ansah.

Es gelang Ascoli, Fibrin mit Placentaenzym zu verdauen, und er folgerte daraus, daß das Ferment sowohl auto- als heterolytisch sei. Weiter betonte Basso in seiner Arbeit nachdrücklich die starke Wirksamkeit des Ferments. Nach vier- bis siebentägiger Autolyse hatte der nichtkoagulable Stickstoff des Autolysats um 100% des in frischer Placenta vorhandenen Gehaltes zugenommen. Leucin und Tyrosin fanden sich im Filtrate.

Die Autolyse betrifft auch augenscheinlich die Xanthinbasen, indem die Menge der freien Purine nach der Autolyse größer ist als vorher.

Bergell und Liepmann fanden, daß Placentagewebe fähig ist, Proteine zu verdauen und Kohlehydrate zu invertieren. Die diastatische Wirkung auf Stärke war sehr ausgesprochen; auf Saccharose, Lactose und Glykogen war die Wirkung eine außerordentlich schwache. Die Wirkung des Eiweiß spaltenden Ferments war sehr deutlich, indem reichlich Aminosäuren gebildet wurden. Fettspaltendes Enzym war nicht nachweisbar. Die Autoren waren nicht imstande, einen merklichen Unterschied in der Aktivität der in eklamptischen und normalen Placenten vorhandenen Fermente zu beweisen.

### b) Der Fibringehalt des Blutes schwangerer Frauen.

Vor 40 Jahren untersuchte H. Nasse die Menge des im Blute schwangerer Frauen enthaltenen Fibrins. Er fand, daß mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft eine allmähliche Zunahme des Fibringehalts im Blute bis zu dem Tage der Niederkunft stattfand. Nach der Geburt fielen die Werte wieder, bis sie mit denjenigen der nicht schwangeren Frauen übereinstimmten. Nasses Ergebnisse waren folgende: Bei nicht schwangeren Frauen 2,36‰; im siebenten Monat 3,82‰. Die Untersuchung trächtiger Hündinnen bestätigte die an Frauen erhaltenen Resultate.

Im Jahre 1897 teilte Kollmann die Ergebnisse von Untersuchungen über den Fibringehalt des Venenblutes eklamptischer Frauen mit. Der Gehalt an Fibrin war viel stärker, als der von Nasse bei normaler Schwangerschaft gefundene. Die höchste angegebene Zahl war 9,0‰; in einem anderen Falle enthielten sowohl das mütterliche als das fötale Blut 7,5‰; und in drei anderen Fällen fand er 6,7‰. Kollmann brachte die Zunahme an

Fibrin im Blute mit Landois' Beobachtungen über das Vorhandensein von Kreatin, Kreatinin, Leucomainen und Carbamaten im eklamptischen Blut in Zusammenhang. Man nahm an, daß diese Substanzen eine celluläre Zerstörung verursachten und gewisse „Globuline" frei machten. Diese „Globuline" waren wahrscheinlich das, was man heutzutage als Nucleoproteide bezeichnet.

Diensts Angaben über die Menge des Fibrins im mütterlichen und fötalen Blute beweisen, daß, wenn Kollmanns Ziffern auch sehr hoch sind, doch in Wirklichkeit eine Zunahme des Fibringehalts bei Eklampsie vorhanden ist. Nach Dienst sind die Thromben autochthonen Charakters. Die giftigen Substanzen, die sie hervorbringen, affizieren nicht nur das Blut, sondern auch die Gefäßwände. Die Wirkung der Substanzen ist daher eine doppelte. Die in den Eingeweiden gefundenen charakteristischen Thromben können daher eine teilweise Erklärung in diesem vermehrten Fibringehalt des mütterlichen Blutes finden.

Landois meint, daß die Koagulabilitätszunahme des Blutes durch das Eindringen von Eiweißspaltungsprodukten in die Circulation hervorgebracht wird. Diese Substanzen vermehren die Menge des Ferments in der Flüssigkeit.

Schmorl fand, daß, wenn man die Spaltungsprodukte des Eiweißes intravasculär einspritzte, man einen der Eklampsie sehr ähnlichen Symptomkomplex erhält. Wenn man Schmorls Experimente als Erklärung für die Ätiologie der Eklampsie annehmen will, so könnte man den Schluß ziehen, daß die im Harn dieser Patienten beobachtete Störung der Stickstoffverteilung in gewisser Beziehung zu der Wirkung dieser Substanzen im Blute steht.

Szili hat eine große Anzahl kryoskopischer Messungen des normalen und eklamptischen Blutes vorgenommen und zieht den Schluß, daß der Gefrierpunkt des Blutes bei Eklampsie nicht herabgesetzt ist. Er schreibt die Toxämie irgend einer hochmolekularen Substanz zu, die im intermediären Stoffwechsel hervorgebracht wird. Büttner, der dies verneint, hat beim eklamptischen Blut einen niedrigeren Gefrierpunkt als beim normalen gefunden. Es ist anzunehmen, daß die Eklampsie nicht in sehr enger Verwandtschaft zu der molekularen Konzentration des Blutes steht.

Der von Wiener, Dienst, Büttner und anderen beobachtete hohe Blutdruck bei Eklampsie deutet auf das Vorhandensein irgend eines giftigen Agens unbekannten Charakters und Ursprunges in der Circulation.

Andererseits teilt Vogeler[1]) in einer kürzlich erschienenen Arbeit über den Blutdruck schwangerer Frauen einen Fall mit den typischen Symptomen der Eklampsie mit, bei dem der Blutdruck 90 mm Quecksilber betrug. Häufiger führten jedoch die Fälle von Schwangerschaft zu Eklampsie, deren Blutdruck über 150 mm betrug.

Nach Dienst verarbeitet der Foetus Stoffwechselprodukte, welche die Mutter unfähig ist, zu eliminieren.

Die bloße Tatsache, daß ein Kind wiederholte Anfälle von Krämpfen hat, die manchmal stärker sind als die der Mutter, ist kaum auf einen fötalen Ursprung des Giftes zurückzuführen.

Das Vorhandensein von Substanzen, die eine Zunahme der Fibrinkonzentration im eklamptischen Blute verursachen, weist auf die Möglichkeit hin, daß die Zunahme durch die Produkte des intermediären Eiweißstoffwechsels erfolgt. Da eine ausgesprochene Störung in dem Verhältnis der verschiedenen Stickstofffraktionen des Harns zueinander bei diesem Zustande beobachtet worden ist[2]), wird man veranlaßt, darnach zu forschen, ob diese Produkte im mütterlichen Organismus selbst gebildet oder ob sie von der Placenta resorbiert werden.

Es zeigt sich, daß durch die Autolyse des Uterus während seiner Involution Albumosen im Harn auftreten. Es ist wohl auch möglich, daß die in der Placenta vorhandenen Fermente während der Schwangerschaft aktiv werden und zur Bildung von Spaltungsprodukten der Eiweißkörper führen. Zu gleicher Zeit können andere Fermente stärker aktiv werden und den allgemeinen Stoffwechsel des Organismus in eigener Weise beeinflussen.

### c) Versuche.

Die Arbeit, die wir hier unternommen haben, ist ein Versuch, den Umfang der in der normalen, eine kurze Zeit lang stehenden

---

[1]) Amer. Journ. of Obstetrics 55, No. 4, 1907.

[2]) Ewing and Wolf, Amer. Journ. of the Med. Scienc. 131, 751, 1906; Amer. Journ. of Obstetrics 55, No. 3, 1907.

Placenta vor sich gehenden Autolyse mit dem der eklamptischen Placenta im frischen und autolysierten Zustande zu vergleichen. Die Frist wurde willkürlich zu sieben Tagen gewählt.

Unter Anwendung von frischen und autolysierten normalen Placenten als Vergleichsobjekte wurden eklamptische Placenten in frischem und autolysiertem Zustande geprüft und die Resultate verglichen.

## *Methodisches.*

Die Placenten wurden unter aseptischen Bedingungen losgelöst, und es wurde jede Vorsicht angewandt, um so wenig Veränderung wie nur möglich von der Zeit der Entnahme bis zur ersten Analyse eintreten zu lassen. Die Zeit, die zwischen der Geburt und der Präparation des Organs verstrich, betrug höchstens einige Stunden.

Nach Einlieferung ins Laboratorium wurde die Placenta von Blut und Gerinnsel rein gewaschen und die Gefäße wurden durch Einschneiden und Waschen entleert. Die Überbleibsel der Amnionhäute, sowohl die freien Enden als die die Foetusseite der Placenta bedeckenden, wurden entfernt. Die Sehne wurde beseitigt. Das Organ wurde alsdann gewogen. Darauf wurde es fein zerhackt und wieder gewogen. Die zerkleinerte Placenta wurde in drei Teile geteilt.

100 g wurden in einen Kolben mit 500 ccm heißen destillierten Wassers getan und schwach mit Essigsäure angesäuert. Die Mischung wurde 30 Minuten lang auf 90—100° erhitzt. Dann wurde sie durch Gaze gepreßt und der Rest in einer Presse so weit wie möglich von der Flüssigkeit befreit. Diese Flüssigkeit wurde zu dem ersten Filtrat gefügt. Die vereinigten Flüssigkeiten wurden durch Papier filtriert. Um die vollständige Entfernung aller koagulablen Proteine zu sichern, wurde die Flüssigkeit wiederum 30 Minuten lang auf 100° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Filtrat auf 500 ccm aufgefüllt. Dies Filtrat enthält alle die nichtkoagulablen Stickstoffsubstanzen, die in der frischen Placenta vorhanden sind.

Andere 100 g des Organs wurden genommen und in eine Stöpselflasche mit 500 ccm destillierten Wassers, 60 ccm Chloroform und 40 ccm Toluol getan. Die Flasche wurde in einen

Thermostat von 37° gebracht. Sie wurde jeden Tag sorgfältig geschüttelt, und am Ende einer Woche wurde die Analyse vorgenommen.

Dem Rate von Schumm zufolge wurde die Sterilität der Mischung von Zeit zu Zeit kontrolliert, indem man Agartuben einen Teil des Autolysates zusetzte. In keinem Falle war ein Wachstum nachweisbar. Die Mischung wurde in genau derselben Weise wie die frische Placenta behandelt.

Ein dritter Teil der frischen Placenta wurde in absoluten Alkohol gebracht und bei Zimmertemperatur getrocknet. Dieser Teil wurde zu verschiedenen anderen Experimenten verwandt.

Die Bestimmungen in den frischen und autolysierten Extrakten wurden nach Hausmann vorgenommen und zwar mit Modifikationen, wie sie in den Arbeiten von Osborne, Harris, Gümbel u. a. angegeben worden sind. Eine vorherige Auflösung des Organs wurde nicht vorgenommen.

Alle Analysen wurden doppelt gemacht, und die Untersuchungen nach folgenden Methoden ausgeführt:

Gesamtstickstoff: Kjeldahl.

Amidstickstoff: Nach einer Reihe von Experimenten entschlossen wir uns, die Magnesiamethode aufzugeben, weil es schwierig war, übereinstimmende Resultate mit den Kontrollanalysen zu erlangen.

Ein Teil dieses Mangels an Genauigkeit ist unzweifelhaft der Aufspaltung einiger der komplexeren Substanzen bei dem Freiwerden des Ammoniaks zuzuschreiben.

Die schließlich angenommene Methode war die von Folin. Die Vorteile, welche dieses Verfahren für Arbeiten dieser Art bietet, sind recht groß. Die Kontrollanalysen sind äußerst zufriedenstellend, und bei Zimmertemperatur wird die Möglichkeit einer Ammoniakabspaltung in sehr starkem Maße vermieden. Ferner wird die nachfolgende Fällung mit Phosphorwolframsäure durch Abwesenheit des dicken Magnesiabreies erleichtert. Die angewandte Methode war folgende:

50 ccm des Placentaextraktes wurden in einen geräumigen Kolben gebracht, 1 g Natriumcarbonat hinzugefügt und drei Stunden lang Luft durchgetrieben. Die Luft, die das freie Ammoniak aus der Lösung entfernte, wurde durch ein bestimmtes Volumen

$^1/_{10}$ n-Schwefelsäure gesogen. Die Säure wurde dann mit einer Normalalkalilösung in der gewöhnlichen Weise titriert.

Diaminostickstoff.

Die vom Aminostickstoff befreite alkalische Lösung wurde mit 75 ccm einer wässerigen Lösung von Phosphorwolframsäure (Kahlbaum) gefällt, die 100 g der Substanz und 100 ccm konzentrierter Salzsäure im Liter enthielt[1]).

Man fand bei mehreren Versuchen, daß diese Menge der Lösung genügte, um das Placentaautolysat vollständig zu fällen. Das Gefäß mit dem Niederschlag wurde 48 Stunden stehen gelassen.

Gümbel hat gezeigt, daß die Fällung in drei bis sechs Stunden vollständig ist. Die Operation scheint erleichtert zu werden, wenn man die Mischung längere Zeit stehen läßt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit kleinen Mengen der Phosphorwolframsäurelösung gewaschen.

Das Filterpapier und der Rückstand wurden in 50 ccm 20proz. Kalilauge getan und die Diaminosäuren enthaltende Lösung auf 200 ccm gebracht. Alsdann wurde sie durch einen trockenen Filter filtriert. In einem aliquoten Teil der Lösung, gewöhnlich in 50 ccm, wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Dies ergibt den in der Lösung vorhandenen Diaminostickstoff.

Aminosäurestickstoff.

Das Filtrat des Phosphorwolframsäure-Niederschlags wurde auf 250 ccm gebracht. Ein aliquoter Teil (100 ccm) wurde zur Stickstoffbestimmung genommen. Das Vorhandensein großer Mengen von Phosphorwolframsäure erschwert die Aufschließung.

Es erwies sich als am besten, die Aufschließung langsam 48 Stunden lang fortschreiten zu lassen, indem man größere Mengen konzentrierter Schwefelsäure als gewöhnlich anwandte. Nachdem so verfahren, waren die Kontrollanalysen sehr befriedigend.

Die Resultate der Analysen zweier normaler Placenten kurz nach der Geburt sind in Tabelle I aufgeführt. Die Patientinnen, von denen diese Placenten genommen waren, hatten normale Schwangerschaft, Geburt und Kindbett.

---

[1]) Die angewandte Phosphorwolframsäure schlug eine wässerige 2prozentige Lösung von Harnstoff nicht nieder.

## I. Normale frische Placenta.

| Nummer der Placenta | Gesamter löslicher N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Amid-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Diamino-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Monoaminosäuren-N in 100 g feuchter Placenta | Amid-N : Gesamt-N in % | Diamino-N : Gesamt-N in % | Monoamino-N : Gesamt-N in % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| X. | 0,1205 | 0,0082 | 0,0874 | 0,0547 | 6,8 | 72,4 | 45,3 |
| XI. | 0,1452 | 0,0027 | 0,0931 | 0,0685 | 1,8 | 64,1 | 47,1 |
| Durchschnittl. | 0,1328 | 0,0054 | 0,0902 | 0,0616 | 4,3 | 68,2 | 46,2 |

## II. Normale autolysierte Placenta.

| Nummer der Placenta | Gesamter löslicher N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Amid-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Diamino-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Monoaminosäuren-N in 100 g feuchter Placenta | Amid-N : Gesamt-N in % | Diamino-N : Gesamt-N in % | Monoamino-N : Gesamt-N in % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| X. | 0,2716 | 0,0205 | 0,1096 | 0,1849 | 7,5 | 40,2 | 68,2 |
| XI. | 0,2612 | 0,0287 | 0,1041 | 0,1678 | 11,0 | 39,9 | 64,4 |
| Durchschnittl. | 0,2664 | 0,0246 | 0,1068 | 0,1763 | 9,2 | 40,0 | 61,3 |

In dieser Tabelle sind bloß die Autolysen der Placenten X und XI wiedergegeben. Bei den früheren Untersuchungen waren die angewandten Methoden mehr oder weniger provisorische, und einige der Organe wurden zu vollständigen Hydrolysen verwendet.

## Tabelle III.

| Nummer der Placenta | Gesamter löslicher N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Amid-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Diamino-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Monoaminosäuren-N in 100 g feuchter Placenta | Amid-N : Gesamt-N in % | Diamino-N : Gesamt-N in % | Monoamino-N : Gesamt-N in % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| II. | 0,2018 | 0,0158 | 0,1058 | 0,0852 | 7,8 | 52,4 | 42,1 |
| III. | 0,1926 | 0,0287 | 0,0974 | 0,0676 | 14,9 | 50,6 | 35,1 |
| IV. | 0,6087 | 0,0165 | 0,4656 | 0,1370 | 2,7 | 76,4 | 22,1 |
| V′. | 0,2630 | 0,0055 | 0,1695 | 0,1027 | 2,0 | 64,4 | 39,2 |
| V″. | 0,2685 | 0,0082 | 0,1726 | 0,1095 | 3,0 | 64,5 | 41,0 |
| VI. | 0,3564 | 0,0109 | 0,2740 | 0,1027 | 3,0 | 77,2 | 28,8 |
| VII. | 0,1589 | 0,0151 | 0,1095 | 0,0787 | 9,4 | 68,9 | 49,6 |
| VIII. | 0,1808 | 0,0068 | 0,1150 | 0,0682 | 3,7 | 63,6 | 37,7 |
| IX. | 0,1564 | 0,0145 | 0,0931 | 0,0719 | 9,3 | 59,4 | 44,6 |
| X. | 0,2484 | 0,0255 | 0,1461 | 0,0776 | 10,3 | 58,6 | 31,2 |
| XI. | 0,1157 | 0,0024 | 0,0742 | 0,0479 | 2,0 | 64,3 | 41,2 |
| Durchschnittl. | 0,2493 | 0,0189 | 0,1658 | 0,0823 | 6,2 | 63,6 | 37,5 |

**Tabelle IV.**

| Nummer der Placenta | Gesamter löslicher N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Amid-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Diamino-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Monoaminosäuren-N in 100 g feuchter Placenta | Amid-N : Gesamt-N in % | Diamino-N : Gesamt-N in % | Monoamino-N : Gesamt-N in % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| II. | 0,3371 | 0,0316 | 0,0952 | 0,2096 | 9,3 | 28,5 | 61,8 |
| III. | 0,4576 | 0,0356 | 0,1096 | 0,3150 | 7,7 | 23,9 | 68,8 |
| IV. | 0,7176 | 0,0218 | 0,2740 | 0,4380 | 3,0 | 38,2 | 61,0 |
| V′. | 0,4548 | 0,0137 | 0,2082 | 0,2534 | 3,0 | 45,6 | 55,5 |
| V″. | 0,4384 | 0,0069 | 0,1370 | 0,3280 | 1,7 | 31,2 | 74,8 |
| VI. | 0,3809 | 0,0561 | 0,1479 | 0,1884 | 14,7 | 38,7 | 49,4 |
| VII. | 0,3726 | 0,0370 | 0,1918 | 0,1507 | 9,9 | 51,4 | 40,4 |
| VIII. | 0,3726 | 0,0192 | 0,2465 | 0,1301 | 5,1 | 66,0 | 34,9 |
| IX. | 0,3096 | 0,0246 | 0,1041 | 0,1986 | 7,9 | 33,6 | 64,1 |
| X. | 0,4896 | 0,0365 | 0,1680 | 0,2785 | 7,4 | 34,3 | 56,5 |
| XI. | 0,2906 | 0,0025 | 0,1398 | 0,1408 | 0,8 | 48,2 | 48,5 |
| Durchschnittl. | 0,4118 | 0,0259 | 0,1656 | 0,2391 | 6,4 | 40,0 | 58,1 |

**Tabelle V.**

| | Gesamtlöslicher N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Amid-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Diamino-N in 100 g feuchter Placenta | Löslicher Monoamino-N in 100 g feuchter Placenta |
|---|---|---|---|---|
| Normale frische Placenta = A′ | 0,1328 | 0,0054 | 0,0902 | 0,0616 |
| Normale autolysierte Placenta = A″ | 0,2664 | 0,0246 | 0,1068 | 0,1763 |
| Eklamptische frische Placenta = B′ | 0,2483 | 0,0189 | 0,1568 | 0,0823 |
| Eklampt. autolysierte Placenta = B″ | 0,4118 | 0,0259 | 0,1656 | 0,2391 |
| A″/A′ . . . . . . . . . . . . . | 2,00 | 4,50 | 1,18 | 2,88 |
| B′/A′ . . . . . . . . . . . . . | 1,86 | 3,50 | 1,74 | 1,34 |
| B″/B′ . . . . . . . . . . . . . | 1,65 | 1,37 | 1,03 | 2,90 |
| B″/A′ . . . . . . . . . . . . . | 3,10 | 4,89 | 1,83 | 3,92 |
| B″/A″ . . . . . . . . . . . . . | 1,54 | 1,17 | 1,54 | 1,30 |

Die Analyse der normalen Placenten umschließt nur zwei Arten, die sich erheblich voneinander unterscheiden. Die Analysen sind auch nicht sehr gut; denn die Gesamtmenge des Stickstoffes kommt in einem Falle auf eine Höhe von 124% des Originalstickstoffes im Placentaextrakt und im anderen auf 113%. Der Amidstickstoff bildet 4,3% des Gesamtstickstoffes im normalen Placenta-

extrakt, der Diaminostickstoff 68,3% des Gesamtstickstoffes und der Aminosäurestickstoff 46,2% des Gesamtstickstoffes.

Bei der siebentägigen Autolyse der Placenta nahm der gesamte lösliche, nicht-koagulable Stickstoff der Placenta bis 0,2664% der feuchten Placenta zu, im Gegensatz zu 0,1328% der frischen nicht-autolysierten Placenta. Die Menge des löslichen, nicht-koagulablen Materials hat, verglichen mit dem nicht-autolysierten Extrakt, bis 2,00 zugenommen. Von diesem löslichen Stickstoff hat der Amidstickstoff in viel größerem Verhältnis zugenommen als die Gesamtproteolyse. Das Verhältnis des Amidstickstoffes im autolysierten Extrakt zu dem im nicht-autolysierten beträgt 4,5 zu 1, mit anderen Worten: die Desamidierung ist mehr als zweimal so kräftig gewesen wie die Proteolyse. Es könnte den Anschein haben, als hätte dies hauptsächlich auf Kosten des Diaminosäurestickstoffes stattgefunden; denn diese Fraktion des Stickstoffes hat ihr Verhältnis zum Fortschreiten der Proteolyse nicht bewahrt.

Während der lösliche Stickstoff bei der Autolyse bis zur doppelten Menge desjenigen im Extrakt der nicht-autolysierten Placenta zugenommen hat, ist die Menge des Diaminostickstoffes überhaupt kaum vermehrt; das Verhältnis war: 1,18 zu 1.

Die Bildung der Aminosäuren hat jedoch rascher stattgefunden als die proteolytische Spaltung; das Verhältnis der Bildung der ersteren zur letzteren betrug: 2,88 zu 1.

### *Eklamptische Placenten.*

Ein Vergleich der normalen frischen Placenta mit der eklamptischen frischen zeigt, daß der gesamte lösliche Stickstoff im letzteren Organ fast doppelt so groß ist wie im ersteren. Der Umfang der Desamidierung ist jedoch im eklamptischen frischen Organ nicht so groß wie im normalen autolysierten. Das Verhältnis beträgt 3,5 zu 4,5. Die Bildung von Aminosäuren ist auch bei der Autolyse, die im frischen eklamptischen Organ stattgefunden hat, nicht so rasch fortgeschritten. Denn wenn man das frische eklamptische Organ mit der autolysierten normalen Placenta vergleicht, findet man den Aminosäurestickstoff im Verhältnis von 1,34 zu 2,88, d. h. während die Proteolyse im frischen eklamptischen Organ fast ebenso groß gewesen ist wie in der normalen Placenta, die eine Woche lang autolysiert worden war, waren die Desamidierung und

Bildung von Aminosäuren nicht so ausgesprochen wie bei der normalen Autolyse; andererseits wurden die Diaminosäuren in relativ größerer Menge als bei der normalen Autolyse gebildet.

Ein Vergleich der im eklamptischen Organ und in der normalen Placenta stattfindenden Autolyse ergibt folgende Punkte: der absolute Unterschied zwischen den frischen und den autolysierten normalen Placenten war gleich 0,1336% des Gesamtstickstoffes. Bei der eklamptischen Placenta wurde eine größere Menge löslichen Stickstoffes während der Autolyse gebildet; die Menge betrug 0,1625 g auf 100 g feuchter Placenta. Das Höchstmaß an Amidstickstoff, der während der Autolyse der normalen Placenta gebildet wurde, war größer als das während der Autolyse der eklamptischen Placenta gebildete und betrug 1,92 zu 0,7. Die höchste Menge an während der Autolyse der normalen Placenta gebildetem Diaminostickstoff war tatsächlich doppelt so groß wie die bei der Autolyse der eklamptischen Placenta. Die einzige Fraktion, in der eine größere Menge löslichen Stickstoffes während der Autolyse der eklamptischen Placenta gebildet wurde, war die Aminosäuregruppe. Hier findet man, daß das Verhältnis des mehrgebildeten Aminosäurestickstoffes in der eklamptischen Placenta zu dem in der normalen Placenta 1.5 zu 1,1 beträgt.

## Krankengeschichten.

Fall II. Keine Geschichte. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,52 zu 1,00.

Fall IIIa). Alter 44 Jahre. XVIII. Geburt. Sechster Monat. Sechzehn normale Geburten. Eine Fehlgeburt. Am 7. Januar 1906 ins Hospital aufgenommen. Zwei Wochen lang Kopfschmerzen. Klagte eine Woche lang über Trübung des Blickes. Hatte bei der Aufnahme dunkelfarbiges Erbrechen. War bei Bewußtsein, kam aber bald in einen Dämmerzustand mit Muskelkrämpfen. Die Geburt wurde eingeleitet. Nach 2 Tagen der Halbbewußtlosigkeit genas die Patientin. Die Analyse der Placenta III zeigt eine leichte, aber deutliche Abweichung von der Norm. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulabten Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,45 zu 1,00.

Fall IV. Keine Geschichte. Tödliches Ende. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff der frischen normalen Placenta war 4,5 zu 1,00.

Fall Vd). Alter 25 Jahre. I. Geburt. Während der ganzen Zeit der Schwangerschaft litt die Patientin an Kopfschmerzen, Lichtscheu, Augenschmerzen und nächtlichem Erbrechen. Bei fortschreitender Schwanger-

schaft wurden diese Symptome heftiger. Schließlich kamen Schmerzen, Schlafsucht und in den letzten 4 Wochen Ödeme. Am 12. März 1906 um 1 Uhr nachmittags begannen die Wehen. Sofort stellten sich Konvulsionen ein. Die Krämpfe wiederholten sich, bis die Patientin ins Hospital aufgenommen wurde.

Der Uterus wurde alsbald von Zwillingen entbunden. Es folgten Krämpfe in Abständen von 15 Minuten. Es wurde Aderlaß und Salzeinspritzungen gemacht. Die Patientin blieb unter dem Einfluß des Chloroforms bis zum nächsten Tage um 7 Uhr morgens. Dies schwächte die Krämpfe nicht ab. Es folgte Koma, und um 2 Uhr nachmittags trat der Tod ein.

Die beiden Placenten wurden kurz nach der Entbindung analysiert. Die eine war entschieden dunkel, während die andere normales Aussehen zeigte. Die chemische Untersuchung erwies, daß ihr Gehalt an nicht-koagulablen Stickstoffverbindungen fast identisch war (Placenten $V^1$ und $V^2$). Jede Placenta ergab einen Stickstoffgehalt des Extraktes gleich dem der autolysierten normalen. Dieser Fall wies die stärkste Autolyse aller untersuchten Placenten mit Ausnahme von Fall IV, der tödlich war, auf. Der nicht-koagulable Stickstoff war in diesem Falle tatsächlich die Summe der beiden Placenten: 0,5315 g. Ein Vergleich mit der normalen zeigt, welch eine Ausdehnung die Autolyse angenommen hat. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 2,02 zu 1,00.

Fall VI. Keine Geschichte. Das Verhältnis des Stickstoffes im nichtkoagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 2,68 zu 1,00.

Fall VII. I. Geburt. Vierzigste Woche der Schwangerschaft. Aufgenommen am 9. April 1906. Lag in Krämpfen, als ins Krankenhaus aufgenommen. Temperatur 100° F, Puls 140. Hatte vor der Aufnahme sieben bis zehn, nach der Aufnahme zwei Krämpfe. Dann wurde sie komatös. Um 11 Uhr vormittags wurde sie von einem lebenden Kinde entbunden, welches 2 Tage später in Krämpfen starb. Am 11. April kam sie zu Bewußtsein. Die physikalische Untersuchung ergab Zeichen von Lungenkrankheit, und sie starb einige Monate darauf in einem anderen Krankenhause an einer Lungenentzündung. Die Untersuchung des Harns zeigte Albumin und viele Formelemente. Dieser Zustand dauerte während des Aufenthalts der Kranken im Hospital an. Das Verhältnis des Stickstoffes im nichtkoagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,36 zu 1,0.

Fall VIII. 23 Jahre alt. I. Geburt. 38. Woche der Schwangerschaft. Aufgenommen am 16. April 1906. Hatte 3 Monate lang Ödem an den Beinen. Gelegentliches Erbrechen. Am 14. April bemerkte sie Flecke vor den Augen. Hatte große Kopfschmerzen. Zwei Tage später, um 10 Uhr vormittags, trat ein Krampf ein. Vier leichte vor 11 Uhr abends, als sie ins Krankenhaus gebracht wurde. Die Geburt wurde umgehend eingeleitet. Es traten keine Krämpfe mehr auf und die Patientin erholte sich vollständig und schnell. Der Harn enthielt am Tage der Krämpfe Albumin

und Formelemente. Er war nach der Entbindung normal. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,17 zu 1,00. Placenta VIII zeigt eine Zunahme an nicht-koagulablem Stickstoff gegenüber der normalen. Dieser milde Fall hatte nur wenige voreklamptische Symptome und wurde niemals vollständig komatös.

Fall IX. 29 Jahre alt. I. Geburt. Siebenter Monat der Schwangerschaft. Patientin war sehr fettleibig. Hatte monatelang vor den Krämpfen große Kopfschmerzen, Flecke vor den Augen und Ödeme an den Füßen. Am 23. Mai 1906 verfiel sie plötzlich in Krämpfe, denen Koma folgte. Während des Anfalls hatte sie 39 Krämpfe. Bei der Aufnahme ins Hospital war sie komatös. Puls 57 mit sehr hoher Spannung. Die Geburt wurde eingeleitet. Die Placenta war fest, und es folgte ein sehr starker Blutfluß. Die Autopsie ergab einen zerrissenen Uterus, der Riß öffnete sich nach dem breiten Ligament. Es waren auch zahlreiche Gehirnblutungen vorhanden. Die Analyse der Placenta IX zeigt bloß eine leichte Abweichung von der Norm. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,20 zu 1,00.

Fall X. Alter 19 Jahre. II. Geburt. Am 26. Juni 1906 aufgenommen. Hat einige Zeit an Ödemen der Hände, Füße und des Gesichts gelitten. Am 25. Juni um 3 Uhr nachmittags begann sie zu erbrechen. Die Übelkeit war praktisch eine dauernde. Es traten heftige Schmerzen im Epigastrium und leichte Muskelzuckungen auf. Es folgten vier Krämpfe. Künstliche Entbindung um 6 Uhr vormittags. Um 8 Uhr vormittags kam sie zu Bewußtsein, von welcher Zeit ab sie sich allmählich erholte. Placenta X zeigt eine sehr entschiedene Abweichung von der normalen frischen Placenta. Der nicht-koagulable Stickstoff dieser Placenta ähnelte sehr demjenigen einer normalen Placenta nach siebentägiger Autolyse. Dieser Fall zeigte entschiedene voreklamptische Symptome. Da jedoch der allgemeine Zustand der Patientin gut war, kann man annehmen, daß das Gift eliminiert war, und daß ihre Widerstandskraft ausreichte, um der Einwirkung der Intoxikation zu widerstehen. Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 1,87 zu 1,00.

Fall IX. I. Geburt. Vorgeschichte von geringem Wert. Übereinstimmend damit hatte die Patientin wenig voreklamptische Symptome. Am 13. Juli 1906 bekam sie einen Krampf, wurde ins Krankenhaus gebracht und mittels Kaiserschnittes entbunden. Vor der Niederkunft hatte sie fünf bis acht Krämpfe, nach der Geburt vierzehn. Es wurden nicht mehr als 250 ccm Harn von der Zeit der Operation bis zum Tode der Patientin, der am 15. Juli um 2 Uhr morgens eintrat, ausgeschieden. Die chemische Analyse der Placenta reiht sie ein in die Gruppe der normalen Placenten. Die mikroskopische Untersuchung der Nieren ergab ein Bild heftiger Nephritis. Die Leber zeigte leichte, aber sehr früh eingetretene Veränderungen. Im Harn war viel Albumin und viele Cylinder mit zahlreichen Blutkörperchen. Es war ausgesprochenes Ödem der Beine und Füße vorhanden.

Das Verhältnis des Stickstoffes im nicht-koagulablen Extrakt zum Stickstoff in der frischen normalen Placenta war 0,88 zu 1,00.

Bei der Besprechung der vorliegenden Frage muß man betonen, daß der Anteil der Placenta an der Entstehung der Eklampsie derartig evident ist, daß man zu folgenden zwei Schlüssen gelangt.

Entweder hat die Autolyse der Placenta keinen wesentlichen Anteil an der Ursache der Krankheit, oder man muß annehmen, daß Faktoren, die im Ursprunge fundamental verschieden sind, sich klinisch unter das Bild der Eklampsie gruppieren. Daß letzteres wenigstens bis zu gewissem Grade zutrifft, ist durch die abweichenden pathologisch-anatomischen Befunde bei der Krankheit bewiesen. Bei den meisten der mikroskopisch untersuchten Fälle fand man Thrombosen in der Leber oder in einigen anderen Organen. Andererseits wird von vielen Fällen berichtet, die alle typischen Symptome der Eklampsie aufwiesen und die bei der Sektion keine Spuren von Thrombosen zeigten.

Nach einem Überblick über die obigen zehn Fälle im einzelnen kommt man zu der Frage, welche Beziehung zwischen dem nicht-koagulablen Stickstoff der Placenta und den gleichzeitigen eklamptischen Erscheinungen besteht.

Sind die Symptome der Eklampsie auf Resorption einiger sogenannter „nicht-koagulabler Stoffe“ durch die mütterliche Circulation zurückzuführen? Oder ist diese Zunahme nur ein einzelnes Phänomen eines komplexeren Vorganges?

Den Versuch, den Produkten der Autolyse eine toxische Wirkung zuzuschreiben, findet man in folgenden Arbeiten.

1. Nasse, Kollmann und Dienst haben gezeigt, daß der Fibringehalt des eklamptischen Blutes übernormal ist.

2. Schmorl, Dienst und andere haben gefunden, daß das pathologische Bild der Eklampsie in vielen Punkten mit dem einer primären Thrombosis übereinstimmt.

Die physiologische Wirkung der Injektion von Albumosen und Peptonen in den Blutkreislauf ist wohl bekannt. Es tritt ein Sinken des Blutdruckes und eine beträchtliche Verbindung der Koagulationskraft des Blutes ein. Bei Injektion der Produkte der Selbstverdauung erzielt man wechselnde Wirkungen. Nolf fand, daß die Injektion der abiureten Produkte der Pankreasverdauung den „Peptoneffekt“ hervorbrachte. Thompson erhielt negative

Resultate mit den Eiweißsubstanzen Antipepton, Protamin und Histon.

Wolf hat die Wirkung der gereinigten Produkte der Eiweißspaltung auf den Blutdruck und Vasomotorenapparat untersucht. Außer in einem einzigen Falle wurde keine Wirkung auf den Blutdruck bemerkt. Bei Injektion von 0,005 g Natriumsalz von Glucothionsäure in den Blutkreislauf einer Katze wurde eine Steigerung des Blutdrucks um 36 mm erreicht. Zu gleicher Zeit war die Koagulationszeit für das Blut vermindert. Er schließt, daß die Hydrolyse um so weiter fortschreitet, je weniger starke Circulationsstörungen die entstehenden Produkte hervorrufen. Wahrscheinlich rührt die Peptonwirkung von der Verbindung gewisser Gruppen zu einer Art von Polypeptiden her. Andererseits erzielte Halliburton bei Anwendung von verschiedenen Polypeptiden keine Wirkung auf den Blutdruck.

Daß die Zersetzungsprodukte von Eiweiß eine Veränderung im Charakter des Blutes hervorbringen, ist durch die Verdauungsleukocytose bewiesen, die nach einer stark eiweißhaltigen Mahlzeit auftritt. Limbeck hat gezeigt, daß die Zunahme der Zahl der Leukocyten nach bloß Fett und Kohlehydrate enthaltender Nahrung ausbleibt. Wenn die Resorption der Eiweißspaltungsprodukte im Verdauungskanal eine Leukocytose hervorruft und mutmaßlich eine Abnahme der Koagulationszeit, so liegt die Vermutung nahe, daß die Resorption von Spaltungsprodukten der autolysierenden Placenta eine gleiche Wirkung hervorrufen könne. Daß einige dieser Substanzen die Koagulationskraft des Blutes beeinträchtigen können, ist durch die Experimente mit Glucothionsäure bewiesen.

Außer den bei einfacher Autolyse direkt beteiligten Enzymen sind zugleich spezifischere Fermente wirksam.

Sollte der Vorgang der einer einfachen Autolyse sein, so würde man erwarten, daß die verschiedenen Fraktionen des nichtkoagulablen Stickstoffes ihr Verhältnis zueinander sowohl in der normalen, als in der eklamptischen Placenta bewahren würden. Wie man bei Durchsicht von Tabelle II sehen wird, ist dies nicht der Fall. Es besteht ein Unterschied in der Durchschnittsmenge des Amidstickstoffes der frischen normalen und frischen eklamptischen Placenten von 0,0135 g löslichen Amidstickstoffes auf 100 g frischer Placenta zugunsten der eklamptischen Pla-

centa. Die Zunahme an Amidstickstoff ist relativ größer als die Proteolyse.

Mit anderen Worten: in der eklamptischen Placenta ist das desamidierende Enzym relativ wirksamer als die autolytischer Fermente.

Die desamidierende Wirkung der Placenta ist schon von Savaré untersucht worden, und Hofbauer, Raineri, Costa, Ballerini, sowie Viano und Brazzo haben andere Fermente in der Placenta gefunden. Ferner war es ein Ergebnis der italienischen Forscher und besonders von Savaré, daß die Placenta ein Blut koagulierendes Ferment enthält, das fähig ist, Fibrinogenlösungen innerhalb dreier Stunden zu koagulieren.

In Anbetracht der Tatsache, daß die autolytischen Vorgänge in der eklamptischen Placenta vermehrt sind und daß das desamidierende Enzym stärker wirksam ist als in der normalen, ist man berechtigt, anzunehmen, daß die Blut koagulierenden Fermente bei Eklampsie aktiver sind als unter normalen Bedingungen der Schwangerschaft.

Mit der Resorption dieser Enzyme in die allgemeine Circulation hat man bei einem Individuum, dessen Blut schon eine verminderte Koagulationszeit zeigt, die notwendigen Faktoren zur Bildung zahlreicher Thromben. Wenn man aus irgend einem Grunde erkrankte Gefäßwände hat, so ist damit ein dritter Faktor von großer Bedeutung zur Bildung von Koagulationsherden gegeben.

Mit der Verlangsamung, welche die Circulation in der Leber erfährt, könnte man erwarten, daß sich in diesem Organ sehr leicht Thromben bilden würden.

Die wahrscheinlichste Erklärung für die Thrombenbildung und die daraus entstehenden Folgen bildet die Annahme, daß das allmähliche Eindringen von Autolysenprodukten einschließlich von Spaltungsprodukten der Proteine und Enzyme in den Blutkreislauf die Bildung von Thromben in den verschiedenen Organen, besonders in der Leber, verursacht, und daß die durch die Verstopfung der Gefäße hervorgerufene Störung andere Produkte, die eine ähnliche Wirkung haben, frei macht.

Bei einer phlegmatischen Patientin werden Warnungen in Form von Kopfschmerzen, Übelkeit usw. nicht beachtet, trotz der Tatsache, daß der Zustand sich ständig verschlimmert.

Infolgedessen können Leber und Nieren, ehe der erste Krampf einsetzt, bereits so geschädigt sein, daß jeder andere, als der tödliche Ausgang äußerst zweifelhaft ist.

Der Anteil, den die Nieren bei dieser Affektion haben, ist sicherlich sekundär, wenn auch wichtig. Harnuntersuchungen bei Eklampsie weisen in der Regel auf Nephritis. Wenn die Involution des Organs früh und stark erfolgt, so ist die Prognose entsprechend ungünstig.

Während man besonderes Gewicht auf das Vorhandensein im Übermaß von autolytischen Produkten in der eklamptischen Placenta gelegt hat, scheint es doch richtiger, ihnen an sich eine sekundäre Rolle zuzuweisen. Bedeutungsvoller ist ihre Zunahme, da sie anzeigt, daß im Laufe der fortschreitenden Autolyse Fermente, deren wichtigstes im vorliegenden Falle ein Blut koagulierendes Enzym ist, bei der Spaltung des Placentagewebes frei werden und die als Eklampsie bekannten pathologischen Wirkungen hervorrufen.

## Teil II.

### Die Wirkungen der Injektion von Placenta-Gewebe auf Tiere.

Während die vorliegende Arbeit ausgeführt wurde, erschienen zwei Arbeiten von Liepmann über die Ätiologie der Eklampsie. Dieser Forscher impfte vergleichsweise Kaninchen zerkleinertes Placentagewebe sowohl von normalen als von eklamptischen Placenten ein. Als Resultat seiner Ergebnisse schloß er, daß das Placentagewebe von Eklampsiefällen bei Impfung auf Kaninchen Symptome hervorbringt, die dem Zustand bei Frauen sehr ähnlich waren. Die Resultate waren so bemerkenswert, daß man sich entschloß, sie zu wiederholen.

Liepmanns Angaben zur Herrichtung des Placentagewebes wurden so weit wie möglich befolgt. In den ersten Fällen wurde das zerkleinerte Organ in 96 proz. Alkohol gebracht; den Alkohol ließ man von selbst verdampfen. Dieser Vorgang wurde mehrere Male wiederholt, bis das Material ganz hart wurde und durch eine kleine Pulvermühle getrieben werden konnte. Schließlich wurde es im Achatmörser in ein ganz feines Pulver verwandelt.

Im zweiten Fall wurde das Gewebe bei etwa 35° in Beebes Abänderung des Faustschen Trockenapparates getrocknet. In beiden Fällen war das resultierende Pulver dunkelgrau.

1 g dieses Pulvers wurde in 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit zwei Tropfen Toluol versetzt. Eine große Kanüle und ein Trokar dienten zu der Injektion des Pulvers in die Bauchhöhle. Die zu diesen Experimenten verwendeten Kaninchen waren Weibchen, aus deren Zitzen ein milchiges Sekret gepreßt werden konnte.

Der Unterschied in der Wirkung der normalen und eklamptischen Placenten ist am besten aus den folgenden Versuchen ersichtlich, die fast zur gleichen Zeit ausgeführt wurden, so daß das Kontrolltier sich unter denselben Bedingungen befand wie das Tier, welches die pulverisierte eklamptische Placenta bekam.

Experiment I. Kaninchen Nr. 392. Weibchen, schwarz, Gewicht 1280 g, Temperatur 39,4°.

16. Mai 1906, erhielt 11,45 vormittags intraperitoneal eine Emulsion, die 1,0 g normaler Placenta enthielt.

12,05 nachm. Liegt auf der Seite ruhig in der Ecke des Käfigs; Hinterbeine ausgestreckt.

12,40 nachm. Ruhig; Atmung normal; Lage ausgestreckt; Pupillen etwas erweitert.

1,45 nachm. Normale Lage.

3,00 nachm. Normal, weist aber Nahrung zurück.

4,15 nachm. Ebenso.

17. Mai, 11,00 vorm. Anscheinend normal; hat keine Nahrung zu sich genommen. Gewicht 1260 g; Temperatur 38,8°.

4,15 nachm. Nahrung genommen, anscheinend wohl.

18. Mai, 11,00 vorm. Anscheinend normal. Gewicht 1160 g; Temperatur 38,8°.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 19. Mai. | Gewicht | 1229 g; | Temperatur | 39,0°. | Gesund, | nimmt | Nahrung. |
| 21. „ | „ | 1280 „ | „ | 39,4°. | „ | „ | „ |
| 24. „ | „ | 1320 „ | „ | 39,5°. | „ | „ | „ |
| 25. „ | „ | 1360 „ | „ | 39,7°. | „ | „ | „ |
| 26. „ | „ | 1360 „ | „ | 39,7°. | „ | „ | „ |
| 28. „ | „ | 1460 „ | „ | 39,6°. | „ | „ | „ |

Experiment II. Kaninchen Nr. 385. Weibchen, braun, Gewicht 1660 g; Temperatur 39,1°.

16. Mai 1906, 12,05 nachm. Intraperitoneal geimpft mit einer Emulsion von 1 g lufttrockener eklamptischer Placenta.

12,10 nachm. Atmung schnell; liegt ausgestreckt.

12,18 nachm. Pupillen erweitert, Bewegungen mit den Hinterbeinen.

12,25 nachm. Liegt ausgestreckt; Atmung schnell.

12,40 nachm. Unruhig; Atmung schnell; Pupillen erweitert.

1,45 nachm. Ebenso.

2,00 nachm. Weist Nahrung zurück.

2,15 nachm. Unruhig.

2,35 nachm. Ebenso.

17. Mai, 11,00 vorm. Anscheinend wohl, hat aber keine Nahrung genommen. Gewicht 1560 g; Temperatur 39,0°.

5,15 nachm. Sitzt auf; sieht krank aus; ißt nicht.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 18. Mai. | Gewicht | 1540 g; | Temperatur | 38,9°. | Gesund, nimmt Nahrung. |
| 19. „ | „ | 1540 „ | „ | 39,4°. | „ „ „ |
| 21. „ | „ | 1620 „ | „ | 39,1°. | „ „ „ |
| 23. „ | „ | 1640 „ | „ | 39,4°. | „ „ „ |
| 24. „ | „ | 1600 „ | „ | 39,1°. | „ „ „ |
| 25. „ | „ | 1600 „ | „ | 39,1°. | „ „ „ |
| 26. „ | „ | 1600 „ | „ | 39,4°. | „ „ „ |
| 28. „ | „ | 1700 „ | „ | 39,4°. | „ „ „ |

Beobachtungen abgebrochen.

Bei einer Reihe von zehn Experimenten dieser Art starb bloß ein Tier. In diesem Falle zeigte sich post mortem eine Affektion des Peritoneums. Eine andere pathologische Verletzung war nicht nachweisbar. Es bestand auch nicht der leiseste Unterschied in der Wirkung der normalen und der eklamptischen Emulsionen. Die Resultate waren ausnahmslos negativ.

Liepmann äußerte bei der Besprechung seiner Resultate, daß die Placenten von schweren Fällen von Eklampsie weniger giftig wären, als die von weniger akuten Fällen. Man nahm an, daß dies der Tatsache zuzuschreiben sei, daß bei ersteren mehr Toxin als bei letzteren frei geworden wäre. Folglich wäre das Organ bis zu einem gewissen Grade vom Toxin befreit worden. Unter diesen Umständen würde Eklampsie notwendigerweise eine an sich beschränkte Krankheit sein. Leider ist dies nicht der Fall. Meistenteils nimmt die Krankheit ohne operativen Eingriff einen tödlichen Ausgang. Andererseits dauert manchmal sogar nach der Operation der eklamptische Zustand fort, wenn Teile der Placenta zurückgehalten werden. Wenn die restierenden Teile des Organs nun entfernt werden, so hören die Krämpfe auf.

## Teil III.

### Die Wirkung des eklamptischen Blutserums auf Tiere.

Im Jahre 1868 impfte Chambrelent Tieren das Serum von eklamptischen Patientinnen ein und fand, daß eine Dosis von 4,0 ccm per Kilo Körpergewicht genügte, um ein Kaninchen zu

töten. Er fand das Foetusserum weniger wirksam als die mütterliche Blutflüssigkeit.

Vom modernen Standpunkt aus ist die Erklärung der unmittelbaren Wirkungen der Injektion eines fremden Serums durch die Komplexität der folgenden Phänomene erschwert.

Mairet und Bosc bestimmten die Wirkungen der Injektion normalen menschlichen Serums auf Kaninchen, und Volhard fand, daß eine Dosis von 2—5 ccm per Kilo für diese Tiere tödlich war.

Kürzlich hat Semb versucht, die toxischen Wirkungen des eingespritzten normalen Serums zu verhindern, indem er die Widerstandskraft der Kaninchen durch wiederholte Vorbehandlung mit kleinen Dosen normalen Serums hob. Tiere, bei denen Immunität gegen normales Serum hervorgebracht worden war, wurden mit normalen und eklamptischen Seris behandelt und der Unterschied dann beobachtet. Semb teilt als Resultat seiner Experimente mit, daß die Injektion eklamptischen Serums bei Kaninchen, die gegen normales Serum immunisiert waren, gewöhnlich ein tödliches Endeh erbeiführte. Die Organe jener Tiere zeigten dasselbe Bild, das man bei an Eklampsie gestorbenen Frauen fand. In keinem Falle litten die Tiere an Krämpfen.

Als Kontrolle zu Sembs Ergebnissen wurde der Versuch gemacht, die Wirkung des eklamptischen Serums auf normale, nichtimmunisierte Kaninchen zu bestimmen. Die injizierte Menge betrug 10 ccm. Bei dem Tier (Weibchen) zeigte sich keine nachteilige Wirkung infolge der Injektion. Der Harn enthielt weder Cylinder, Albumin noch Hämoglobin. Während der Woche, die der Injektion folgte, nahm das Tier an Gewicht zu. Es war anscheinend drei Wochen lang normal. Nach Ablauf dieser Zeit fand man es tot in seinem Käfig. Weder die makroskopische noch die mikroskopische Untersuchung des Tieres zeigten eine Verletzung, die den bei der Eklampsie beobachteten ähnlich gewesen wäre.

Die intraperitoneale Injektion eklamptischen Serums zeigte ebenfalls negative Resultate.

Während wir diese Ergebnisse nicht für einen vollgültigen Beweis gegen die ausgezeichneten Experimente halten, die Semb zur Stütze seinen Ansichten ausgeführt hat, so waren die Erfolge unserer eigenen Arbeit doch so entmutigend, daß wir es für unratsam hielten, sie fortzusetzen.

## Teil IV.

### Die Wirkungen der Injektion von Extrakten der eklamptischen Placenta auf Tiere.

Es wurde eine Reihe verschiedener Experimente angestellt, um die Wirkung des Extrakts von Placentagewebe auf Tiere zu ermitteln.

Bei der einen Reihe wurde die Placenta fein zerkleinert und mit 0,85 proz. Kochsalzlösung extrahiert. Der Auszug wurde durch Gaze, Papier und schließlich durch ein steriles Pukallfilter filtriert. Dieser Extrakt hatte bei intraperitonealer Einspritzung keine Wirkung.

Bei der zweiten Gruppe wurde der nicht-koagulable Extrakt der frischen eklamptischen Placenta zur intraperitonealen Injektion benutzt. Diese Experimente zeigten gleichmäßig negative Resultate. Eine entschiedene Abnahme des Gewichts trat ein, aber wenn die Einspritzungen unterbrochen wurden, erlangte das Tier sein normales Gewicht zurück.

Aus diesen Versuchen ergaben sich die Wirkungen des Extrakts autolysierter normaler Placenten. Die Wirkung war eine ähnliche wie die der frischen eklamptischen Placenta, wenn auch weniger ausgesprochen. Es hat den Anschein, als wäre der Unterschied, den man zwischen der Wirkung der normalen und der eklamptischen Extrakte beobachtet, nur ein quantitativer. Irgend eine spezifische Wirkung des eklamptischen Extraktes bleibt aus.

Ein möglicher Grund für die fehlende spezifische Wirkung bei Injektionen des Placentagewebes liegt in der Anwendungsart. Wie von verschiedenen Autoren hinsichtlich der Toxizität von Produkten der Acidosis bei Diabetes ausgeführt worden ist, kann man die Resultate, die man bei der Injektion großer Mengen dieser Substanzen auf einmal erhält, nicht mit der Wirkung vergleichen, die ihre konstante Bildung und ihr Eintritt in den Kreislauf hervorruft.

Ähnlich ist es wohl möglich, daß das konstante Eindringen von Produkten der Autolyse der eklamptischen Placenta Wirkungen hervorrufen kann, die vollständig anders sind als jene, die man beobachtete, wenn Placentaextrakt auf einmal in größeren Mengen eingeimpft wurde. Oder daß, wie dies oft der Fall ist, der Organismus bei gestörter Nierenfunktion das toxische Produkt

eliminieren kann, bis die Niere unfähig ist, das Gift völlig auszuscheiden und die Symptome der Eklampsie auftreten.

## Teil V.

## Die Endotoxine des Placentagewebes.

Vor einiger Zeit hat Weichardt versucht, das Vorhandensein eines Endotoxins im Placentasyncytium darzutun. In seinen früheren Experimenten (1901) meinte er, daß es möglich wäre, ein spezifisches Serum durch Injektion syncytischer Zellen bei einem Tier hervorzubringen. Das so gebildete Serum setzte, wenn es syncytischen Zellen zugefügt wurde, das Endotoxin der letzteren in Freiheit. Genauere Beobachtung hat ergeben, daß keine Cytolyse stattfindet, wenn man die Zellen mit dem Serum mischt. In einer späteren Arbeit ist der Versuch gemacht worden, das Vorhandensein eines Endotoxins durch eine andere Methode zu beweisen.

Placentagewebe, das durch Durchströmen mit physiologischer Kochsalzlösung vom Blute befreit worden war, wurde ausgepreßt, und der Extrakt wurde mit Zusatz einer geringen Menge Salzlösung als „Probegift" verwendet.

Die Einspritzung von 1—3 ccm dieser Lösung in die Ohrvene eines Kaninchens war imstande, schnelle Atmung, Krämpfe und Tod herbeizuführen. Die Autopsie dieser Tiere zeigte, daß das Blut in den Gefäßen teilweise koaguliert war.

Durch wiederholte Einimpfung kleiner Mengen des „Probegiftes" gelang es Weichardt, eine partielle Immunität herzustellen, so daß eine Dosis, die für normale Kaninchen tödlich war, bei dem immunisierten Tier nur verlangsamte Atmung und Schläfrigkeit hervorrief. Er verglich den Vorgang, durch den die partielle Immunität hervorgerufen wurde, demjenigen, der bei der Injektion bactericider Toxine auftritt.

Als Resultat seiner Untersuchung folgert Weichardt, daß „Eklampsie" durch eine infolge Cytolyse von Placentazellen hervorgebrachte toxische Substanz entsteht. Diese Substanz wird in den Blutlauf gebracht, und bei Frauen, die keine genügende Menge Antitoxin haben, werden die für Eklampsie charakteristischen Koagulationsnekrosen hervorgebracht.

Leider sind die Experimente, auf denen er seine Argumente aufbaut, nicht über alle Bedenken erhaben.

Die Wirkung der Injektion von Nucleoproteiden, die in der Bildung intravaseulärer Gerinnsel besteht, ist wohl bekannt, und es ist oftmals gezeigt worden, daß Lösungen von Nucleoproteiden z. B. der Niere bei intravenöser Zufuhr den Tod durch massenhafte Thrombenbildung zur Folge haben. Solche Nucleoproteide sind Bestandteile nahezu aller Gewebe. Das Bild, das Weichardt von seinen Placentagewebeeinimpfungen gibt, ist genau dasjenige der Injektion von Nucleoproteidlösungen. Überdies muß bei der Vorbereitung seines Probetoxins unzweifelhaft genügend von diesen Bestandteilen in Lösung gegangen sein, um die typische Blutgerinnselwirkung hervorzubringen, und wenn dies der Fall war, so hat man keine Garantie dafür, ob die Wirkung dem Toxin oder den Nucleoproteiden zuzuschreiben ist.

Es wurden zwei Methoden für die Entscheidung angewandt, ob die Wirkung des „Probetoxins" in Wirklichkeit den in ihm enthaltenen Nucleoproteiden zuzuschreiben sei.

Genau nach Weichardts Beschreibung wurde das „Probetoxin" hergestellt.

Einem Teil dieser Lösung wurden einige Tropfen dezinormaler Essigsäure zugesetzt, bis die Reaktion der Lösung schwach sauer war. Der Niederschlag der Nucleoproteide wurde durch Zentrifugieren entfernt. Die Nucleoproteide wurden in einer kleinen Menge 0,5 proz. Natriumcarbonats aufgelöst und die Flüssigkeit auf das Originalvolumen des Probetoxins gebracht. Die Lösung, aus der die Nucleoproteide entfernt worden waren, wurde auch genau mit Natriumcarbonat neutralisiert.

Sodann wurden drei Impfungen vorgenommen. Eine mit der Nucleoproteidlösung, eine andere mit der von Nucleoproteiden befreiten Lösung des „Probetoxins" und die dritte mit dem originalen „Probetoxin" selbst.

Bei Injektion von 0,9 ccm des „Probetoxins" in die Ohrvene eines trächtigen Kaninchens traten geschwächte und jagende Atmung ein, worauf Tod durch Krämpfe folgte. Die Wirkung des „Probetoxins" war zweifellos kräftiger auf den Organismus des trächtigen Kaninchens mit seinem vermehrten Inhalt an fibrinbildenden Elementen im Blute.

Bei Impfung mit der Nucleoproteidlösung in Dosen von 3—6 ccm wurde die typische Nucleoproteidreaktion erhalten, indem die Tiere hämorrhagischen Infarkten erlagen.

Injektionen von 10—15 ccm des von Nucleoproteiden befreiten „Probetoxins" waren absolut ohne Wirkung auf den allgemeinen Zustand des Kaninchens.

Eine andere Methode des Beweises, daß die Wirkung des „Probetoxins" durch seinen Gehalt an Nucleoproteiden bedingt sei, schien folgende zu sein:

Halliburton und Brodie[1]) und Pickering[2]) haben bewiesen, daß Albinotiere für die Wirkung der Nucleoproteide weniger empfänglich sind als dunkle Tiere. Um diesen Unterschied mit „Probetoxin" zu demonstrieren, wurden schwarze und weiße Tiere geimpft.

Während die Resultate nicht absolut sicher waren, fand man doch, daß ein weißes Kaninchen auf eine Impfung von 6 ccm Probetoxin weniger akut reagierte als ein schwarzes Tier nach Verabfolgung von 3 ccm. In allen Fällen erfolgte der Tod; die anatomischen Befunde waren genau dieselben wie die bei Injektion von Nucleoproteiden aus anderen Organen, wie z. B. aus der Niere ins Blut.

## Teil VI.

### Die Rolle der Milchsäure bei der Entstehung der Eklampsie.

Das Vorhandensein übernormaler Mengen von Ammoniak im Harne eklamptischer Frauen veranlaßte Zweifel, nach der Gegenwart der Säure zu suchen, an die das Ammoniak gebunden war. Das Suchen wurde belohnt durch die Entdeckung von Paramilchsäure im Harn und im Blut von Patientinnen, die an dieser Krankheit litten. Nicht nur das mütterliche Blut enthielt diese Säure, sondern auch das Fötalblut und die Extrakte der Placenta.

Dies war nicht das erstemal, daß Milchsäure im Blut und im Harn gefunden worden ist. Schon im Jahre 1867 isolierte Schultzen in einem Falle von Phosphorvergiftung große Mengen der Säure aus Harn. Dieses Resultat ist seit der Zeit wiederholt von anderen Forschern bestätigt worden.

Die Zahl der Bedingungen, unter denen diese Säure gefunden worden war, ist eine sehr beträchtliche. Die Krankheiten,

---

[1]) Halliburton and Brodie, Journ. of Physiol. **17**, 135, 189/.

[2]) Pickering, Journ. of Physiol. **20**, 310, 1896.

bei denen man die Säure findet, sind die, welche entweder mit Atmungsstörungen verbunden sind, oder mit solchen Affektionen einhergehen, die klinisch in die Gruppe der verminderten Oxydationen gerechnet werden.

Unter den Krankheiten, die in diese beiden Gruppen fallen, befinden sich Urämie, Pneumonie, Leukämie und Anämie (v. Jaksch); Lebercyrrhose (Stadelmann und Weintraud); Epilepsie (Araki, Inouye und Saiki, Irisawa); Kohlenoxydvergiftung (Münzer und Palma).

Wie man sieht, ist die Liste eine ziemlich umfangreiche, und die Krankheiten sind weit genug verbreitet, um zu dem Verdachte zu führen, daß der Ursprung der Milchsäure kein gewöhnlicher ist.

Die Kenntnisse, die man durch physiologische Experimente nach dieser Richtung hin erlangt hat, sind unsicher. Hermann fand im Jahre 1867, daß die Säure im Harn nach starker Muskelarbeit auftrat, besonders wenn die Sauerstoffzufuhr ungenügend war, und seine Resultate sind seit der Zeit von Moscatelli, Colasanti, von Frey und anderen bestätigt worden.

Das Vorhandensein von Milchsäure im Blute normaler Tiere ist keine sicher feststehende Tatsache. Von Wichtigkeit sind die Angaben von Enderlin, Meyer, Minkowski und Salomon, die sie im Blute ihrer Versuchstiere nicht zu finden vermochten. Im Blute einer trächtigen Hündin, das wir prüften, fanden wir keine Spur der Säure.

Die experimentellen Beweise, die gesammelt worden sind, um die Ursache des Auftretens von Milchsäure im Blute zu finden, haben ebenso wie bei den erwähnten Beispielen gezeigt, daß zahlreiche operative Eingriffe imstande sind, ihr Vorkommen sowohl im Blute als im Harn zu veranlassen.

Minkowskis Versuche haben gelehrt, daß sich nach Exstirpation der Leber bei Vögeln große Mengen Ammoniumlactat im Blute finden, obgleich der Organismus der Fähigkeit ermangelt, Ammoniak und Milchsäure zu Harnsäure zu synthetisieren.

Ein ähnliches Resultat sieht man bei Säugetieren als Folge der Eckfisteloperation. Nebelthau fand nach der Exstirpation der Leber bei 265 Fröschen 0,127 g Zinksalz der Milchsäure im gesammelten Harne dieser Tiere, der an den vier der Operation folgenden Tagen aufgefangen worden war.

Der Einfluß verminderter Sauerstoffversorgung auf das Auftreten von Milchsäure im Harn und Blut ist gleichfalls sehr gründlich untersucht worden.

Liebig zeigte im Jahre 1847, daß, wenn man Milchsäure und Lactate in die Circulation einführt, die Säure schnell oxydiert wird, wenn nicht die Zufuhr an Sauerstoff bei dem Tiere ungenügend ist. Araki fand an seinen Tieren bei allmählicher Sauerstoffentziehung, daß mit der Abnahme der Luftzufuhr Milchsäure im Harn erschien. Daß die besondere Muskelanstrengung bei Mangel an Luftzufuhr nicht der einzige Faktor bei der Bildung der Säure war, wurde durch die Tatsache bewiesen, daß curarisierte Tiere Milchsäure hervorbrachten, wenn ihnen die Luftzufuhr abgeschnitten wurde. In Übereinstimmung mit diesen Schlüssen stehen die Experimente von Zillesen, der die Menge der gebildeten Milchsäure größer fand, wenn die Muskel in einer sauerstoffarmen Atmosphäre tätig waren, als wenn die Konzentration des Sauerstoffes übernormal war.

Zur Kontrolle von Zweifels Resultaten machten wir wiederholt Blutuntersuchungen an eklamptischen Patientinnen. Die angewandte Methode war im wesentlichen die von Zweifel mit Modifikationen von Lockemann. Die Extraktion der Säure aus der wässerigen Lösung wurde materiell durch Benutzung eines Flüssigkeitsextraktionsapparates nach Kumagawa und Suto erleichtert. Die Extraktion wurde 24 Stunden lang mit einem sehr schnellen Ätherstrom fortgesetzt.

In jedem untersuchten Falle von Eklampsie enthielt das Blut Milchsäure.

Bei einem ähnlichen Falle, über den Zweifel berichtet, wurden zwei Blutanalysen vorgenommen. An einem Tage, als die Krämpfe heftig waren, wurden 160 ccm Blut entzogen und 0,073 g Zinksalz der Milchsäure daraus dargestellt. Am folgenden Tage wurden 170 ccm Blut entnommen, und diese Menge ergab nur 0,023 g Zinksalz. Diese Patientin genas sehr schnell.

Nicht ein einziges Mal lieferte das Blut einer normal gebärenden Frau wägbare Mengen Zinksalz, und wie erwähnt, führte die Untersuchung an einer trächtigen Hündin zu einem ähnlichen Resultat.

Diese Ergebnisse bestätigen also vollständig diejenigen von Zweifel. Wenn wir jedoch zur Erklärung der Befunde schreiten,

sind wir gezwungen, einen anderen Weg als dieser Forscher einzuschlagen.

Wenn man auch als Basis die unzweifelhafte Anwesenheit von Milchsäure im Blute eklamptischer Frauen annimmt und zugibt, daß die Säure ein Produkt eines speziellen intermediären Stoffwechsels ist, so ist doch sicherlich eine andere Erklärung als die Annahme Zweifels möglich, daß Milchsäure ein Kausalfaktor bei der Bildung von Eklampsie ist.

Die Quelle der Milchsäure hat den Ausgangspunkt für zahlreiche Untersuchungen gebildet. Man kann annehmen, daß Milchsäure sowohl aus Kohlehydraten als aus Proteinen und Zersetzungsprodukten der letzteren, den Aminosäuren, gebildet werden kann. Sicherlich legt die enge Beziehung, die zwischen der Säure und Alanin, Cystin und Phenylalanin besteht, die Vermutung nahe, daß sich diese Aminosäuren durch einen einfachen Vorgang leicht in jene Säure umwandeln können. Jedenfalls gibt es keinen entschiedenen Beweis gegen solch eine Annahme. Die genauen Bedingungen, unter denen die Umwandlung vor sich geht, sind jedoch so in Dunkel gehüllt, daß es gegenwärtig unangebracht erscheint, mit ihnen zu rechnen. Was betont werden muß, ist die Tatsache, daß wir beim normalen Stoffwechsel die Möglichkeit der Säurebildung haben. Daß diese Säure durch ihr Auftreten im Blute die Ursache der Eklampsie ist, erscheint uns jedoch äußerst zweifelhaft. Die Ursachen für diese Zweifel sind folgende:

Soweit uns bekannt ist, hat niemand das Vorhandensein von Milchsäure im voreklamptischen Stadium, während der eklamptischen Toxämie, bewiesen. In dieser Zeit müßte die Milchsäure am reichlichsten zugegen sein, stände sie in enger Beziehung zur Ursache der Krankheit. Alle Untersuchungen, die bisher angestellt worden sind, haben mehr oder weniger einen Zusammenhang zwischen der Heftigkeit der Krämpfe und der Menge der im Harn und Blut gefundenen Milchsäure erkennen lassen.

Andererseits können die Vertreter der Ansicht, daß Milchsäure tatsächlich die Ursache der Eklampsie ist und nicht lediglich das Produkt von Dyspnoe und Beeinträchtigung der Leberfunktionen, die folgenden Tatsachen zur Bekräftigung ihrer Anschauung anführen:

Zweifel beschreibt einen Fall von Urämie mit 265 Krämpfen, bei dem sich doch keine Milchsäure im Harne fand. Leider ist dieser Fall für das Argument von nicht sehr großem Gewichte. Die Hauptfrage nämlich für die Beurteilung der Wirkung der Krämpfe ist nicht ausführlich behandelt. Denn es ist möglich, daß die Patientin diese Anfälle ohne irgend welche besondere Atmungsstörungen gehabt haben kann. Ferner ist kein Protokoll der Blutanalyse wiedergegeben. Bei Atembeschwerden müßte sicherlich Milchsäure im Blute gefunden worden sein, und das Nichtvorhandensein im Harne kann sehr wohl einer Störung der Nierenfunktion, infolge deren sie nicht ausgeschieden wurde, zugeschrieben werden.

In einem anderen Falle von Nephritis gravidarum fand man die Säure im Blut, ohne daß Krämpfe vorhanden waren. Das Fehlen von Krämpfen ist kein absolutes Zeichen von ungenügender Oxydation; denn bei Myxödem, wo sicherlich mangelnde Oxydation herrscht, und bei Phosphorvergiftung, wo nach allgemeiner Ansicht die Oxydationsfähigkeit des Organismus vermindert ist, begleiten Krämpfe selten den Zustand[1]).

Es ist ganz sicher, daß Milchsäure die durch Phosphor verursachte Vergiftung sehr regelmäßig begleitet.

Bei den eklamptischen Krämpfen hat man durchaus die zur Bildung von Milchsäure in Blut und Harn notwendigen Faktoren. Diese sind: verstärkte Muskelanstrengung, Atemnot, wie aus dem cyanotischen Zustand der Patientinnen hervorgeht, und drittens — und dies ist sehr wichtig — das Vorhandensein von gewöhnlich sehr heftigen Leberläsionen, welche in pathologisch-anatomischer Hinsicht der akuten gelben Atrophie und Phosphorvergiftung äußerst ähnlich sein können, Zuständen, bei denen man fast stets Milchsäure findet.

Bei der Zusammenfassung der zugunsten der Ansicht sprechenden Punkte, daß Milchsäure der verursachende Faktor der Eklampsie ist, sagt Zweifel in bezug auf die Säure: „.... ich davon spreche, daß die Fleischmilchsäure mit der Eklampsie in kausalem Zusammenhang stehe, um so mehr, als unter den beobachtenden

---

[1]) Die Frage der verminderten Oxydation bei Phosphorvergiftung bleibt noch zu erforschen. Lusk, Proc. of the Soc. for Experim. Biol. and Med. **1907**.

Fällen im allgemeinen bei leichten sehr wenig, bei schweren viel gefunden wurde."

Dieser Schlußsatz kann auch in anderem Lichte betrachtet werden. Die Tatsache, daß jene Fälle mit heftigen Krämpfen mehr Säure hervorgebracht haben mögen als die minder heftigen Fälle, könnte bloß beweisen, daß bei geringerer Atemnot weniger Säure gebildet wurde. In einem Falle wurde das Blut nach dem ersten Krampf und dann nach vielen anderen Anfällen untersucht. Bei der ersten Analyse wurden 0,009% des Zinksalzes isoliert. Nach Wiederholung der Anfälle war die Menge auf 0,0155% gestiegen. Andererseits fand man im Blute, das 5 Stunden nach dem letzten Krampf entnommen war, keine Milchsäure.

Dies kann sehr gut als Beweis dafür gedeutet werden, daß mit besserer Luftzufuhr die Bedingungen zur Bildung von Milchsäure beschränkt waren.

Bei jenen tödlichen Fällen mit wenigen Krämpfen, wo man mehr Milchsäure im Blute fand als bei den nach vielen Krämpfen Genesenden, müssen zwei Faktoren in Betracht gezogen werden. Die Art der Krämpfe ist von fundamentaler Wichtigkeit. In einem einzigen Anfalle kann mehr Atemnot vorhanden und mehr Muskelkraft aufgewandt worden sein als in vielen weniger heftigen Fällen. Bei Prüfung der Milchsäure im Blute muß man den Zustand des Nierensystems in Betracht ziehen. Die Niere ist einer der Kanäle, durch welche die Säure aus dem Blute entfernt wird, und bei Störungen dieses Organs ist es wahrscheinlich, daß sich die Säure im Blute anhäuft und nur wenig davon in den Harn übergeht. Wenn bei heftigen Fällen von Eklampsie eine begleitende akute Nephritis vorhanden ist, kann man natürlich daraus schließen, daß die Säure nicht ausgeschieden wird, und folglich mehr Säure im Blute zu finden ist als bei intakter Niere.

Daß die Placenta eine verhältnismäßig große Menge Säure enthalten kann, ist zu erwarten. Das Blut, das in jedem Falle als Folge der eklamptischen Krämpfe einen geringen Luftgehalt besitzt, gelangt in die Placenta, die von einem Organ umgeben ist, das heftigen Muskelkontraktionen unterliegt. Unter diesen Bedingungen ist der Blutumlauf nicht normal, und die ungenügende Oxydation des Blutes und der Gewebe ist ganz ausgesprochen. Daß intrauterine Dyspnoe genügt, um Krämpfe hervorzubringen, ist durch Zweifels Befund erwiesen, daß in fünf Fällen von

tödlicher Dyspnoe die Föten doch geboren wurden und beträchtliche Mengen Milchsäure im Fötalblut vorhanden waren. In keinem Falle hatten die Mütter Eklampsie.

Die ungenügende Sauerstoffversorgung des Placentablutes ist durch die Auffindung kleiner Mengen Milchsäure im Blute der Nabelschnur in 18 Fällen von normalen Geburten dargelegt.

Schließlich hat Mayer Tieren intravenös Natriumlactat eingespritzt und hat als Ergebnis nicht die geringste physiologische Störung beobachtet.

Eine Prüfung der Ergebnisse von Zweifel zugleich mit den Resultaten, die auch wir erzielt haben, führt uns zu der Schlußfolgerung, daß Milchsäure in keinem kausalen Verhältnis zur Erscheinung der Eklampsie steht, daß sie aber nur als eine Folge der verstärkten Muskelarbeit, der Atemnot und der in diesem Zustande auftretenden Leberstörungen vorkommt.

## Schlußfolgerungen.

1. Der Unterschied, den man im Gehalt an nicht-koagulablem Stickstoff in normalen und eklamptischen Placenten gefunden hat, deutet auf die Möglichkeit hin, daß im eklamptischen Organe eine Autolyse stattgefunden hat.

2. Bei Prüfung auf Selbstverdauung findet man, daß gewisse Enzyme aktiver sind als bei Autolyse im selben Stadium eines normalen Organes. Dies ist durch die verstärkte Wirksamkeit des desamidierenden Ferments bewiesen, wie sie durch das erhöhte Verhältnis des Amidstickstoffes zum Gesamtstickstoff im eklamptischen Organe angezeigt wird.

3. Zu dieser gesteigerten Enzymwirkung kann man verstärkte Wirkung anderer Fermente, darunter hauptsächlich die eines Blut koagulierenden Enzymes, als Kausalfaktor bei der Entstehung der Eklampsie hinzurechnen, wie von Savaré entdeckt wurde. Es könnte den Anschein haben, daß die verstärkte Wirkung dieses Ferments, verbunden mit dem Übermaß fibrinbildender Elemente im Blute schwangerer Frauen das hauptsächlichste Agens bei der Thrombenbildung sei. Daß diese Thromben in erster Linie in der Leber gebildet werden, ist der Verlangsamung des Blutumlaufes zuzuschreiben, die in diesem Organe vor sich geht. Im Einklange hiermit gelingt es nicht,

weder aus eklamptischem Placentagewebe noch aus eklamptischem Serum ein Toxin zu isolieren.

4. Ein Argument, das gegen den Placentaursprung der Eklampsie vorgebracht wurde, ist, daß die Krämpfe oft nach der Loslösung der Placenta vorkommen. In anderen Fällen hören die Krämpfe auch nach eingeleiteter Geburt nicht auf. Dieser Einwand scheint nicht wesentlich zu sein. Das Vorkommen von Insuffizienz der Nieren in diesen Fällen führt zu dem Verdacht, daß viel von dem Zustande renaler Herkunft ist. Ferner kann die ursprüngliche Verletzung vor der Loslösung des Organs stattgefunden haben und die darauffolgende Toxämie durch die Verletzungen der Leber hervorgerufen sein.

5. Viele Fälle von Eklampsie dauern noch nach der Entfernung der Placenta fort, und man hat dann gefunden, daß ein kleiner Teil des Organs zurückgeblieben ist. Nach der Beseitigung dieser Reste hören die Anfälle auf. Dies ist ein schlagender Beweis für die Wichtigkeit der Placenta bei der Ätiologie der Krankheit.

6. Es ist bisher kein Beweis dafür beigebracht worden, daß die Einspritzung einer Emulsion von getrockneter eklamptischer Placenta, die Injektionen von eklamptischen Placentaextrakten oder von eklamptischem Serum bei Tieren irgend einen der Eklampsie verwandten Zustand hervorgerufen hätte.

7. Es ist der Beweis geführt worden, daß Milchsäure kein Kausalfaktor der Eklampsieentstehung ist, aber direkt durch den Mangel geeigneter Luftversorgung vom Blute der Patientin oder durch Störungen der Leberfunktionen entsteht.

In keinem Falle möchten wir dahin verstanden werden, daß wir für einen ausschließlich placentarischen Ursprung der Eklampsie einträten. Der Gegenstand ist viel zu schwierig und zu verwickelt, um einen einzelnen Faktor allein anzuerkennen, wo bei dieser außerordentlich dunklen Krankheit unzweifelhaft andere Einflüsse mitspielen. Alles, was wir zu erreichen hoffen, ist, gewisse Beziehungen herauszufinden, die für die Ätiologie der Krankheit Bedeutung zu haben scheinen; die Beurteilung ihrer relativen Wichtigkeit überlassen wir der Zukunft.

## Literatur.

1) **Araki**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**, 535, 1891; **19**, 422, 1894.
2) **Ascoli**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 498, 1902; Centralbl. f. Physiol. **16**, 124, 1902.
3) **Basso**, Arch. f. Gynäkol. **76**, 162, 1905.
4) **Bergell** und **Liepmann**, Münch. med. Wochenschr. **1905**, 2211.
5) **Büttner**, Arch. f. Gynäkol. **79**, 421.
6) **Chambrelent**, Centralbl. f. Gynäkol., Referat **20**, 727, 1896.
7) **Dienst**, Arch. f. Gynäkol. **65**, 369.
8) **Fischel**, Arch. f. Gynäkol. **24**, 400, 1884.
9) **Folin**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **38**, 161, 1902.
10) **Harvey**, Excercitationes etc., zit. nach Basso.
11) **Hermann**, Untersuchungen über den Stoffwechsel der Muskeln. Berlin 1867.
12) **Hofbauer**, Wien. klin. Wochenschr. **35**, 939, 1904. Grundzüge einer Biologie der menschlichen Placenta. Wilh. Braumüller, Leipzig u. Wien.
13) **Inouye** und **Saiki**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 203, 1892.
14) **Irisawa**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 340, 1894.
15) v. **Jaksch**, Zeitschr. f. klin. Med. **13**, 350, 1888.
16) **Kollmann**, Centralbl. f. Gynäkol. **21**, 341, 1897.
17) v. **Liebig**, Annal. d. Chem. u. Pharmazie **72**, 338, 1847.
18) **Liepmann**, Deutsche med. Wochenschr. **28**, 911, 1902.
19) **Lockemann**, Münch. med. Wochenschr. **53**, 299, 1906.
20) **Mairet** und **Bosc**, Compt. rend. de l'acad. des sciénces **119**, 292, 1895.
21) **Mathes**, Centralbl. f. Gynäkol. **25**, 1385, 1901.
22) **Mayer**, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **21**, 119, 1883.
23) **Merletti**, Rassegna d'ostetricia e ginecologia, zit. n. Basso.
24) **Minkowski**, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **21**, 41, 1883; **31**, 214, 1893.
25) **Moscatelli**, Bolletino della reale academia medicina di Roma **13**, No. 8, 1886; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **27**, 158, 1890.
26) **Moscatelli** und **Colasanti**, zit. n. Maly **20**, 180.
27) **Münzer** und **Palma**, Zeitschr. f. Heilk. **15**, 185, 1896.
28) **Nasse**, Arch. f. Gynäkol. **10**, 315, 1876.
29) **Nolf**, Bulletin de l'académie royale de Belge **2**, 153, 1904.
30) E. **Salkowski**, Zeitschr. f. klin. Med. **17**, 77, 1890; Die Deutsche Klinik **1903**.
31) **Salomon**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 65, 1878; Charité-Annal. **5**, 137.
32) **Savaré**, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **9**, 141, 1907.
33) **Schmorl**, Pathologisch-anatomische Untersuchungen über puerperale Eklampsie, Leipzig 1893; Arch. f. Gynäkol. **65**, 504.
34) **Schultzen**, Zeitschr. f. Chem., zit. nach Beilstein, Handb. d. organ. Chem. **1**, 558, 1867.
35) **Schultzen** und **Riess**, Charité-Annal. **16**, 1, 1869.
37) **Schumm**, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 175, 1905.

38) Semb, Arch. f. Gynäkol. **77**, 63, 1906.
39) Szili, Berl. klin. Wochenschr. **37**, 947, 1900.
40) Weichardt, Münch. med. Wochenschr. **49**, 1825, 1902; **53**, 7, 1906; Deutsche med. Wochenschr. **28**, 624, 1902.
41) Weichardt und Piltz, Deutsche med. Wochenschr. **32**, 1854, 1906.
42) Wiener, Centralbl. f. Gynäkol. **23**, 1335, 1899.
43) Wolf, Journ. of Physiol. **32**, 172, 1905.
44) Zillesen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**, 387, 1891.
45) Zweifel, Arch. f. Gynäkol. **72**, 1, 1904; **76**, 536, 1905; Münch. med. Wochenschr. **53**, 297, 1906.

---

# Elektrolysen in der Zuckerreihe.[1])

Von

**Carl Neuberg.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Durch Übertragung des Schemas der klassischen Kolbeschen Elektrosynthese von Dimethyl (I) auf d-Gluconsäure hoffte ich, zum Alkohol eines 10-Kohlenstoffzuckers (II) zu gelangen:

$$\text{I. } \begin{matrix} CH_3 - COOH \\ CH_3 - COOH \end{matrix} \rightarrow H_2 + 2\,CO_2 + \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH_3 \end{matrix}$$

$$\text{II. } \begin{matrix} CH_2 \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - COOH \\ CH_2 \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - COOH \end{matrix}$$

$$\rightarrow H_2 + 2\,CO_2 + \begin{matrix} CH_2 \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH \\ | \\ CH_2 \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH - CH \cdot OH \,. \end{matrix}$$

Die Reaktion verläuft jedoch in anderer Richtung; es findet keine Kohlenstoffkettenverlängerung, sondern eine Verkürzung statt, und zwar entsteht vorwiegend der Zucker der nächst niedrigeren Reihe.

Auf diesem Wege konnten z. B.

| | |
|---|---|
| d-Gluconsäure | in d-Arabinose |
| l-Arabonsäure | „ l-Erythrose |
| i-Erythronsäure | „ i-Glycerinaldehyd |
| i-Glycerinsäure | „ Glykolaldehyd |
| Glykolsäure | „ Formaldehyd |

übergeführt werden.

Dieser Effekt der Elektrolyse, die eine Aldehydspaltung der Oxysäuren in eigenartiger Weise zuwege bringt, wird durch die allgemeine Formulierung:

$$CH_2 \cdot OH - (CH \cdot OH)_x - CH \cdot O{:}H - COOH \rightarrow CH_2 \cdot OH - (CH \cdot OH)_x - CHO$$

wiedergegeben.

---

[1]) Vorgetragen in der Sitzung der Deutsch. chem. Ges. vom 26. November 1906. — Die ausführlichen Mitteilungen über diesen Gegenstand bilden den Inhalt einiger demnächst erscheinenden Dissertationen.

Man kann also stufenweise den Traubenzucker zum Formaldehyd mit Hilfe von elektrischer Energie abbauen, durch die umgekehrt unter anderen Bedingungen nach Berthelots berühmtem Versuch die Kondensation des Formaldehyds zu richtigen Zuckern gelingt.

Beobachtungen namentlich an der d-Glucoheptonsäure, aber auch in anderen Reihen zeigen, daß als Nebenprodukte bei der Elektrolyse allem Anscheine nach Ketosäuren der Form

$$CH_2 \cdot OH - (CH \cdot OH)_x - CO - COOH$$

auftreten.

Die Darstellung dieser bisher nur ausnahmsweise zugänglichen Substanzen wird durch obiges Verfahren ermöglicht; es wird auch die Gewinnung von optisch-aktivem Glycerinaldehyd und die sichere Feststellung[1]) der Konfiguration der drehenden Glycerinsäuren gestatten.

Weiter hat sich die elektrische Abbaumethode auf die Carbonsäuren der Disacharide ausdehnen lassen. Die Elektrolyse der bisher nicht dargestellten Melibionsäure ergab einen reduzierenden Zucker mit 11 Kohlenstoffatomen, dessen weiteres Studium wichtige Aufschlüsse über die Konstitution der Melibiose bzw. Raffinose verspricht.

Ferner erwies sich das Verfahren auch auf Dicarbonsäuren anwendbar; aus Zuckersäure erhält man Weinsäuredialdehyd, aus Weinsäure[2]) Glyoxal usw.

Schließlich sind auch den Kohlehydratsäuren nahestehende Aminoprodukte, z. B. Serin und Isoserin, des elektrischen Abbaues fähig; aus beiden entstehen Substanzen, die mit p-Nitrophenylhydrazin das entsprechende Osazon des Glykolaldehyds ergeben.

An die Fachgenossen darf ich wohl in Anbetracht der vielfach schwierigen Materialbeschaffung die ergebene Bitte richten, mir und meinen Mitarbeitern zur Ausführung der bezeichneten Aufgaben und Erweiterung der Reaktion Zeit zu lassen.

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **5**, 451, 1907.

[2]) Eigentümlich verläuft der Abbau anderer Pflanzensäuren; so kann man von der Äpfelsäure mit Hilfe des elektrischen Stromes zu Derivaten der Oxybrenztraubensäure gelangen.

# Autorenverzeichnis.



